



# ПРІОННІ ХВОРОБИ ТВАРИН І ЛЮДИНИ

Л.Є. Корнієнко, О.М. Чечет, О.В. Ложкіна, М.С. Карпуленко,  
В.В. Уховський, О.А. Мороз, А.В. Пискун, О.С. Гайдей,  
Т.М. Царенко, І.Ф. Маковська, М.Д. Кухтин



Л.Є. Корнієнко, О.М. Чечет, О.В. Ложкіна, М.С. Карпуленко,  
В.В. Уховський, О.А. Мороз, А.В. Пискун, О.С. Гайдей,  
Т.М. Царенко, І.Ф. Маковська, М.Д. Кухтин

# ПРІОННІ ХВОРОБИ ТВАРИН І ЛЮДИНИ

**ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ  
ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ  
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ  
З ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ТА ВЕТЕРИНАРНО-  
САНИТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ**

**Л.Є. Корнієнко, О.М. Чечет, О.В. Ложкіна, М.С. Карпуленко,  
В.В. Уховський, О.А. Мороз, А.В. Пискун, О.С. Гайдей,  
Т.М. Царенко, І.Ф. Маковська, М.Д. Кухтин**

# **ПРІОННІ ХВОРОБИ ТВАРИН І ЛЮДИНИ**

*За редакцією Л. Є. Корнієнка*

Київ  
ТОВ «Юрка Любченка»  
2022

УДК 636.09:616.83]:[616.9:579.62]](02)

П 75

Затверджено  
вченою радою ДНДІЛДВСЕ  
(протокол № 1 від 15.06.2022 р.)

Автори:

**Л.Є. Корнієнко, О.М. Чечет, О.В. Ложкіна, М.С. Карпуленко,  
В.В. Уховський, О.А. Мороз, А.В. Пискун, О.С. Гайдей,  
Т.М. Царенко, І.Ф. Маковська, М.Д. Кухтин**

Рецензенти:

**Ситюк М. П.**, д-р вет. наук, ІВМ УААН;  
**Радзиховський М. Л.**, д-р вет. наук, НУБіП;  
**Полупан І. М.**, канд. вет. наук, ДНДІЛДВСЕ.

Пріонні хвороби тварин і людини: наукова монографія / Л.Є. Корнієнко та ін. За ред. Л. Є. Корнієнка. Київ: ТОВ «Юрка Любченка», 2022. – 384 с.

**ISBN 978-617-7221-83-7**

У науковій монографії викладено сучасні погляди на пріони та пріонні хвороби тварин і людини. Автори, ґрунтуючись на наукових працях і сучасних розробках щодо діагностики, розповсюдження і профілактики пріонних захворювань розкривають значення цих хвороб в епізоотології й епідеміології, наводять загальні закономірності й тенденції їх поширення, розкривають сучасні відомості про пріони, розкривають питання зоонозного потенціалу пріонних захворювань. Наведено характеристики й особливості перебігу пріонних хвороб тварин і людини, описані епізоотологічні й епідеміологічні їх особливості, викладено сучасні методи діагностики (у тому числі методи білкової ампліфікації) й заходи захисту від цих хвороб.

Наукова монографія розрахована на спеціалістів районних і обласних управлінь, лікарень ветеринарної медицини, слухачів інститутів і факультетів післядипломного навчання, викладачів та студентів факультетів ветеринарної медицини вищих навчальних аграрних закладів і загал практичних фахівців ветеринарної медицини.

**ISBN 978-617-7221-83-7**

© Корнієнко Л.Є., Чечет О.М., Ложкіна О.В.,  
Карпуленко М.С., Уховський В.В., Мороз О.А.,  
Пискун А.В., Гайдей О.С., Царенко Т.М.,  
Маковська І.Ф., Кухтин М.Д., 2022

## СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

**ALS, SAL** (*sclerosis amyotrophica lateralis*) – бічний аміотрофічний склероз;

**BSE** (*bovine spongiform encephalopathy*) – губчаста енцефалопатія великої рогатої худоби;

**CDI** – конформаційно-залежний імунний аналіз;

**CJD** (*Creutzfeldt-Jakob disease*) – Крейцфельда-Якоба хвороба

**CSE** (*camel spongiform encephalopathy*) – губчаста енцефалопатія у верблюдів;

**CPD** (*camel prion disease*) – пріонна хвороба верблюдів;

**CWD** (*chronic wasting disease*) – хронічне виснаження у оленячих (хронічна виснажлива хвороба);

**ENS** (*enteric nervous system*) – нервова система кишківника;

**EUE** (*exotic ungulate spongiform encephalopathy*) – енцефалопатія екзотичних копитних;

**fCJD** – спадкова хвороба Крейцфельда-Якоба;

**FFI** (*fatal familial insomnia*) – фатальне родинне безсоння;

**FDC** – фолікулярних дендритних клітинах;

**FFI** (*fatal familial insomnia*) – фатальне родинне безсоння;

**FSE** (*feline spongiform encephalopathy*) – котяча спонгіформна енцефалопатія;

**FTLD-U** – убіквітин-позитивними включеннями;

**GALT** (*gut-associated lymphoid tissue*) – інтестинальна імунна система;

**GPI** (*Glycophosphatidylinositol*) – глікозилфосфатиділінозитоловий якір;

**GSS** (*Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease*) – Герстмана-Штрауслера-Шейнкера хвороба;

**GuHCl** – гуанідин гідрохлорид (ГХГ);

**HXMS** (*hydrogen-deuterium exchange mass spectrometry*) – воднево-дейтерієва обмінна мас-спектрометрія;

**iCJD** (*iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease*) – ятрогенна форма хвороби Крейцфельда-Якоба;

**NSEP** (*National Scrapie Eradication Program*) – Національна програма ерадикації скрепі;

**PK** (*proteinase K*) – протеїназа К;

**PIPLC** – фосфотидилінозитол-специфічна фосфоліпаза С;

**PMCA** (*protein misfolding cyclic amplification*) – метод циклічної ампліфікації з неправильною упаковкою білків;

**PrP** (*prion protein*) – пріон-протеїн;

**PrP<sup>C</sup>** (*the cellular isoform of prion protein*) – клітинна (фізіологічна) форма пріона;

**PrP<sup>Sc</sup>** (*the pathogenic or scrapie isoform of prion protein*) – патогенна форма пріона;

**rPrP** (*recombinant prion protein*) – рекомбінантна форма пріона;

**RT-QuIC** (*real-time quaking-induced conversion*) – метод індукованої вібрацією конверсії в реальному часі;

**ROS** (*reactive forms of oxygen*) – реактивні форми кисню;

**SAF** – скрепі асоційовані (пов'язані) фібрили;

**SDS** (*sodium dodecyl sulfate*) – додецилсульфат натрію;

**sCJD** (*sporadic Creutzfeldt-Jakob disease*) – спорадична форма хвороби Крейцфельда-Якоба;

**SRM** – матеріали або органи із зазначеним ризиком;

**TME** (*transmissible mink encephalopathy*) – трансмісивна енцефалопатія норок;

**TSE** (*transmissible spongiform encephalopathies*) – трансмісивні губчасті енцефалопатії;

**vCJD** (*variant Creutzfeldt-Jakob disease*) – новий варіант хвороби Крейцфельда-Якоба;

**БАС** – бічний аміотрофічний склероз;

**ВРЗ** – відкриті рамки зчитування;

**ЕР (ER)** – ендоплазматичний ретикулум;

**ІГХ** – імуногістохімія;

**ІФА** – імуноферментний аналіз;

**ПЛР** – полімеразна ланцюгова реакція;

**ТСЕ** – трансмісивні спонгіформні (губчасті) енцефалопатії;

**ЧСА** – численна системна атрофія;

**ЯМР** – ядерний магнітний резонанс.

## ВСТУП

Перед фахівцями ветеринарної медицини України стоїть низка завдань, зокрема проведення безперервного епізоотологічного нагляду за динамікою прояву і розповсюдження інфекційних хвороб тварин, аналізу ризиків занесення збудників особливо небезпечних хвороб тварин на територію України, прогнозування епізоотичної ситуації, оцінювання вживаних заходів захисту, розробка та впровадження нових високоефективних, екологічно безпечних засобів і методів діагностики, профілактики та заходів захисту від інфекційних хвороб тварин.

Найбільш небезпечними й значущими для здоров'я людства нині є захворювання пріонної етіології. Більш як 40 років тому S. Prusiner була запропонована пріонна гіпотеза у виникненні окремих інфекційних захворювань. Факт підтвердження того, що збудником окремих інфекційних захворювань є очищений білок суперечив парадигмі генетики, про те, що будь-який збудник інфекційної хвороби повинен мати у своєму складі РНК чи ДНК (або обидві ці кислоти). Зрозуміло що запропонована S. Prusiner гіпотеза нашою наукою була прийнята й метою багатьох подальших наукових досліджень було саме її спростування. Проте результати таких досліджень лише підтвердили провідні її постулати. Як результат визнання правоти цієї гіпотези S. Prusiner став лауреатом Нобелівської премії 1997 р. (друга премія отримана за відкриття пов'язані з пріонними хворобами після D. Gajdusek) (Zuev V.A. et al., 2020). Вже в 2018 році були отримані інфекційні рекомбінантні ізоформи  $PrP^d$  ( $PrP^{Sc}$ ) в безклітинній системі *in vitro* із суворо фіксованими реагентами, які не містили нуклеїнових кислот (Kim C. et al., 2018). За час, що минув після відкриття пріонів людством накопичено значний об'єм знань про біологію пріонів, патогенез пріонних хвороб, визначене коло сприйнятливих тварин і зоонозний потенціал останніх (Guo J.L., Lee V.M., 2014; Zuev V.A. et al., 2020).

Пріонові захворювання або трансмісивні (як характеристика передачі або інфекційності) губчасті енцефалопатії (TCE) є фатальними неврологічними захворюваннями, які включають хворобу Крейцфельда-Якоба (CJD) у людей, скрепі в овець і кіз, губчасту енцефалопатію великої рогатої худоби (BSE) у великої рогатої худоби, губчасту енцефалопатію у верблюдів (CSE) (Babelhadj B. et al., 2018) і хронічне виснаження в оленячих (CWD). Ключовою

подією за пріонних захворювань є перетворення клітинного пріону, кодованого господарем білка ( $PrP^C$ ) до його аномальної ізоформи ( $PrP^{Sc}$ ) переважно в центральній нервовій системі інфікованого господаря (Aguzzi et al., 2004). Ці захворювання передаються за певних обставин, але на відміну від інших трансмісивних захворювань, пріонні захворювання також можуть бути спричинені мутаційними змінами в гені господаря. Механізм розповсюдження пріонів серед овець і кіз, у яких розвивається природна скрепі, невідомий. *CWD*, трансмісивна енцефалопатія норок (*TME*), *BSE*, котяча спонгіформна енцефалопатія (*FSE*) й енцефалопатія екзотичних копитих (*EUE*) виникають після споживання інфікованого пріонами матеріалу. Більшість випадків пріонної хвороби людини виникають із невідомих причин, а більш як 20 мутацій в гені пріонного білка (*PrP*) можуть призводити до спадкових пріонних захворювань. В інших випадках пріонні хвороби виникають після контакту з інфекційними пріонами (Onodera T., Sakudo A., 2020). Доведення поширеного носійства пріонів *vCJD* (новий варіант хвороби Крейцфельда-Якоба) в лімфоретикулярній системі здорових людей, спричинює занепокоєння щодо вторинної передачі через кров під час переливання, під час хірургічних операцій тощо. З цих позицій *vCJD* залишається пріоритетом для спостереження в Європі. Збільшується кількість спорадичних і спадкових випадків *CJD*, які зараз визнані небезпекою у всьому світі. Є докази розповсюдження збудника *CJD* за межами нервової системи, що збільшує ймовірність ятрогенної передачі останнього. В усьому світі ще продовжують виявляти людей із ятрогенними формами цієї хвороби (тривалий інкубаційний період), спектр спадкових пріонних захворювань постійно збільшується. Додаткове занепокоєння викликають нові потенційні зоонози, такі як *CWD* і *CPD* (*CSE*), й нині отримані результати про потенційну естафетну передачу нових білків із порушенням їх згортання (конформації) (Watson N. et al., 2021).

Пріонні хвороби здебільшого є результатом того, що нормальний білок мозку стає конформаційним. Подія або серія подібних подій призводять до стабілізації в конформаційному перемиканні в ізоформі білка, що генерується в мозку (Cohen F.E., Prusiner S.B., 1998). Останнє може бути реалізоване трьома шляхами. Перший – це потрапляння в клітину попередньо сформованих агрегатів  $PrP^{Sc}$ , які згодом здатні каталізувати зміну конформації утвореного пріонного білка в цій клітині. Інша можливість полягає в тому, що нормальна клітинна ізоформа пріонного білка ( $PrP^C$ ) стикається з іншим агентом,

який потім каталізує перетворення. Це може бути взаємодія з металом, який зазвичай зв'язується з білком, яким може бути, наприклад марганець (Brown D.R., 2000). Нарешті, конверсія до аномальної ізоформи відбувається природним шляхом, але з низькою ймовірністю. Це означає, що кінетична рівновага не сприяє утворенню  $PrP^{Sc}$ , але з часом може утворюватися незначна кількість патологічної ізоформи, достатньої для каталізації й перетворення за першим механізмом. Адаже за однією з гіпотез  $PrP^{Sc}$  утворюється в мозку весь час, але діють механізми, які швидко елімінують його, перш ніж він зможе автокаталізувати подальше формування  $PrP^{Sc}$ . Вважають також, що такі механізми можуть активізуватись в результаті старіння (Brown D.R., 2005).

В цьому контексті деякі дослідження показують, що інші білки, які демонструють пріоноподібну поведінку й конформаційні характеристики, відіграють певну роль під час інших нейродегенеративних захворювань, включно з хворобою Альцгеймера, Паркінсона та Хантінгтона, а також бічного аміотрофічного склерозу (ALS) тощо (Guo J.L., Lee V.M., 2014; Zuev V.A. et al., 2020).

Прогресивне накопичення  $PrP^{Sc}$  може відбуватись лише у тому разі, якщо перетворення  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  відбувається швидше ніж кліренс  $PrP^{Sc}$ . Тому вивчення кліренсу пріонів є доволі важливою справою. Миші *Prnp*<sup>-/-</sup> розвиваються нормально й не можуть реплікувати пріони, що робить їх ідеальною моделлю для вивчення періоду напіврозпаду пріона. Після введення їм пріоновмісного матеріалу, інфекційність зникала протягом 4 діб, що вказує на те, що інфекційні пріони можуть бути еліміновані *in vivo* з високою швидкістю. Ідентифікація молекул і клітин, які беруть участь в кліренсі пріонів буде мати значення для розробки методик лікування пріонних захворювань (Aguzzi A., Zhu C., 2012).

Епізоотологам й епідеміологам усіх рівнів для забезпечення благополуччя території нашої держави необхідно мати глибокі знання щодо особливостей епізоотології, перебігу, клінічного прояву, діагностики та заходів профілактики пріонних хвороб у тварин і людини. Тому автори цієї наукової монографії сподіваються на те, що книга стане у пригоді ветеринарним і медичним фахівцям нашої держави.



## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРІОННОЇ КОНЦЕПЦІЇ, ПРІОНІВ І ТРАНСМІСИВНИХ СПОНГІФОРМНИХ ЕНЦЕФАЛОПАТІЙ

Пріони (англ. *prion* від ***PR*rotein** “білок” плюс *infect***ION** “інфекція”, англ. *proteinaceous infectious particles*; термін було запропоновано в 1982 році Стенлі Прузінером) – особливий клас інфекційних патогенів, які є білками з аномальною структурою (білковими заразними частками) й не мають нуклеїнових кислот. Відомі американські вчені, вірусолог Д.К. Гайдушек, який довів інфекційну природу пріонних хвороб в 1976 році й біохімік С.Б. Прузінер, що дав визначення пріонам і розробив пріонну теорію, в 1997 році отримали Нобелівські премії. Саме робота цих дослідників стала імпульсом для наступних досліджень, завдяки яким почали вивчати нові пріонні інфекції. Prusiner S.B. et al. (1978) виділили й очистили з матеріалу мозку овець агент, який спричинював скрепі в цих тварин, й описали його властивості. З’ясувалось, що останній виявився стійким до нагрівання, зберігав активність після обробки протеїназою *K*, сечовиною, хаотропними солями, *SDS* і агентами, які ушкоджують ДНК. Автори також виявили, що цей інфекційний агент чутливий до іонізуючої радіації за присутності кисню, тобто проявляє властивості, характерні для гідрофобних білків, пов’язаних з ліпідами.

За сучасною уявою пріони є особливим класом суто білкових патогенів (адже останні не містять нуклеїнових кислот), які спричиняють тяжкі інфекційні захворювання центральної нервової системи ряду вищих тварин і людини (пріонові хвороби) (Prusiner S.B. 1997; Somerville R.A., 2002). Ненормальний пріонний білок має аномальну тривимірну структуру і здатний прямо каталізувати структурне перетворення гомологічного йому нормального клітинного білка в собі подібний (пріоновий), приєднуючись до білка-мішені і змінюючи його конформацію (Aguzzi A., 2008). S.B. Prusiner у 1991 р. запропонував концепцію патогенезу трансмісивних губчастих енцефалопатій. Значення згаданої концепції в тому, що людина або тварина можуть бути заражені пріонами двома різними способами: – через спадкову передачу за Менделем (автосомно-домінантний тип успадкування); – через передачу пріонів аліментарним або ятрогенним шляхом. Існує також автоімунна концепція виникнення губчастих енцефалопатій, згідно з якою хвороба виникає внаслідок відповіді імунної системи на присутність антигена, який імітує структуру білків власного організму (Kozak M.R. et al., 2010). На можливість

передачі пріонів сприйнятливим тваринам мають вплив наступні чинники: доза; шлях інфікування; видовий бар'єр (Berg L.J., 1994; Beekes M. et al., 1996).

Спрощено механізм пріоногенезу можна пояснити наступним чином. Молекула пріона не є чимось екзотичним: в “нормальній” формі вона є на поверхні нервових клітин ссавців. Проте виконання цих функцій продовжується до того часу, поки нормальний білок не починає перетворюватись в аномальну форму. І якщо таке відбувається, то інфекційна форма пріонів набуває властивостей “склеюватись” з іншими молекулами, “конвертуючи” їх, так само в патологічну форму, спричинюючи “молекулярну епідемію”. Наслідком такої полімеризації на нервовій клітині є поява токсичних білкових бляшок, й вона гине. На місці загиблої клітини утворюється пустота – вакуоль, що заповнена рідиною. З часом нейрони зникають один за одним, а в мозку утворюється все більше “дірок”, поки мозок у решті решт не перетвориться у губку, після чого настає неминуха смерть (Abramova Z.I., 2006).

Пріонний білок доволі консервативний у ссавців, що передбачає його важливу роль (Rodriguez J.A. et al., 2017; Castle A.R., Gill A.C., 2017). Це невеликий глікопротеїн, який виявляється здебільшого на зовнішньому листку плазматичної мембрани, й утримується тут за допомогою С-кінцевого глікозилфосфатиділінозитолового (*GPI*) якоря (Stahl N. et al., 1987). Нині дослідники для позначення пріонів часто застосовують термін “альтернативні білкові конформації, які демонструють саморозповсюдження” (Watts J.C., Prusiner S.B., 2018). *PrP<sup>C</sup>* існує у двох конформаційних формах “фізіологічній” *PrP<sup>C</sup>*, якою він представлений в нормальних клітинах (“С” – від англ. *Cellular* – “клітинний”), в якій переважають альфа-спіралі, і зміненій або “патологічній” – *PrP<sup>Sc</sup>*, власне пріонній (“Sc” – від англ. *Scrapie* – назва першого відомого пріонного захворювання овець; у сучасній науковій літературі здебільшого використовують короткий апостроф *d* – *PrP<sup>d</sup>*, як символ слова *disease*, власне хвороба), для якого характерна наявність значної кількості бета-листіків. В разі потрапляння в здорову клітину, *PrP<sup>Sc</sup>* каталізує перехід клітинного *PrP<sup>C</sup>* у пріонну конформацію (третинна структура, яка визначається власне укладанням білка). Пріони, які з'являються внаслідок такої трансформації починають перебудовувати нові молекули білка, й запускається ланцюгова реакція, під час якої утворюється значна кількість неправильно “згорнутих” молекул. Інфекційні ізоформи *PrP<sup>Sc</sup>* перетворюють шляхом конверсії нормальні клітинні

мономери білків  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$ -подібні олігомери (фолдинг – утворення складок) й згодом у протофібрили, які формують амілоїдні бляшки, які уражують нейрони і клітини глії головного мозку, спричинюючи губчасту вакуолізацію мозку й загибель всього організму (Prusiner S., 1991, 1998; Zuev V.A. et al., 2020). Останнє у свою чергу змінює взаємодію  $PrP^C$  з іншими білками. Дослідження структури  $PrP^C$  показали, що він складається приблизно з 40%  $\alpha$ -спіралей і 3%  $\beta$ -листіків; в  $PrP^{Sc}$  замість  $\alpha$ -спіралей переважають  $\beta$ -листки. Високий вміст  $\beta$ -листіків корелює зі стійкістю  $PrP^{Sc}$  до ферментативного розщеплення і його інфекційністю (Zavadenko N.N. et al., 2018). Під час переходу білка  $PrP^C$  до пріонного стану  $PrP^{Sc}$  його  $\alpha$ -спіралі перетворюються в  $\beta$ -листки (Агаїю А. Q., 2013), змінюється конформація. На відміну від  $PrP^C$ , який є мономерним і  $\alpha$ -спіральним,  $PrP^{Sc}$  є олігомерним, й як уже зазначалось має високий вміст  $\beta$ -листіків (Surewicz W.K., Apostol M.I. (2011). Такі ненормальні ізоформи об'єднуються в високоструктуровані амілоїдні волокна, які, скупчуючись, формують бляшки. Кінець кожного волокна є своєрідною віссю, до якої можуть прикріплюватися вільні білкові молекули, як результат цього фібрила “росте”. В більшості випадків приєднуються можуть лише молекули  $PrP$ , ідентичні первинній структурі  $PrP^{Sc}$  (тому здебільшого передача пріонів видоспецифічна). Однак можливі й випадки міжвидової передачі пріонів (Grassmann A. et al., 2013).

Отже, на думку S.B. Prusiner et al. (1984), пріон може мати різні форми та типи конфігурацій, а відповідно, й різні патогенні властивості. Згідно із сучасними уявленнями інфекційність пріонів зумовлена посттрансляційними змінами, тобто змінами, яких білок зазнає після його синтезу, і ці модифіковані білки здатні самовідтворюватися. Інфекційний пріон  $PrP^d$  відрізняється від клітинного пріона  $PrP^C$  конформацією, а первинна структура обох білків однакова. Конформація  $PrP^d$  виникає внаслідок точкової мутації, і його відтворення відбувається автокаталітичним шляхом. Для того, щоб сформувати зрілий білок,  $PrP^C$  проходить цілу низку посттрансляційних модифікацій, які ініціюються видаленням  $N$ -кінцевих і  $C$ -кінцевих сигнальних пептидів, що збігається з імпортом зароджуваного ланцюга в ендоплазматичний ретикулум і прикріпленням якоря  $GPI$ . Два  $N$ -зв'язаних глікана також приєднані, і за ними йде дисульфідний зв'язок між Cys178 і Cys213 (Linden R. et al., 2008; Stewart R., Harris D., 2003). Цей дисульфідний зв'язок важливий, оскільки він з'єднує  $C$ -кінцеві  $\alpha$ -спіралі, й стабілізує складки білка  $PrP^C$  (Welker E.

et al., 2002). *PrP<sup>C</sup>* довжина якого становить 210 амінокислотних залишків (Linden R. et al., 2008) потім націлюється на зовнішній листок плазматичної мембрани за рахунок *GPI*-якоря (Linden R. et al., 2008; Stewart R., Harris D., 2003). *PrP<sup>C</sup>* також може піддаватися двом ендопротеолітичним розщепленням (Hooper N., 2005). Нормальне конститутивне розщеплення, відоме як *a*-розщеплення (1) (Mange A. et al., 2004), відбувається в головному мозку і в клітинах які культивуються між залишками 110 і 111. Це розщеплення стимулюється агоністами білка через кіназу C82 й призводить до утворення розчинного *N*-кінцевого фрагмента 9 кДа і *C*-кінцевого фрагмента 17 кДа, який залишається прикріпленим до клітинної мембрани шляхом *GPI*-якорю (Pan K. et al., 1992; Jimenez-Huete A. et al., 1998; Nieznanski K. et al., 2005). Інше розщеплення (2), відоме як *b*-розщеплення (Mange A. et al., 2004), опосередковується реактивними формами кисню (*ROS*) (Mange A. et al., 2004; Watt N. et al., 2005) й призводить до утворення *GPI*-заякореного *C*-кінцевого фрагмента і 7 кДа *N*-кінцевого фрагмента (Pan K. et al., 1992; Jimenez-Huete A. et al., 1998; Taraboulos A. et al., 1992). Згодом *PrP<sup>C</sup>* може піддаватися третьому розщепленню (відомому як шеддинг ектодомена), в якому *PrP<sup>C</sup>* розщиплюється на сайті, близькому до якоря *GPI*, таким чином звільняючи майже повну довжину білка *PrP<sup>C</sup>* із плазматичної мембрани у позаклітинне середовище. Було показано, що таке протеолітичне розщеплення здійснюється шеддазою *ADAM10* (Taylor D.R. et al., 2009; Altmepfen H.C. et al., 2011; Stahl N. et al., 1990). Вивільнення *PrP<sup>C</sup>* з поверхні клітини було продемонстровано не лише в культурі клітин, але також в нейрональних і лімфоїдних клітинах *in vivo* (Taylor D.R. et al., 2009; Parizek P. et al., 2001; Tagliavini F. et al., 1992; Parkin E.T. et al., 2004).

Таким чином, накопичення патологічного пріонного білка супроводжується його агрегацією, утворенням високовпорядкованих фібрил (амілоїд), що зрештою призводить до загибелі клітини. Пріони, що вивільняються, виявляються здатними проникати в сусідні клітини, також спричинюючи їх зараження і загибель. Інкубаційний період пріонних хвороб визначається швидкістю експоненціального зростання кількості патологічних пріонів (Masel J. et al., 1999; Lauren J. et al., 2009). Функції білка *PrP<sup>C</sup>* у здоровій клітині поки що до кінця не визначені. У нормі білок *PrP<sup>C</sup>* асоційований із клітинною мембраною, глікозильований залишком сілової кислоти. Він робить циклічні переходи всередину клітини і назад на поверхню в ході ендо- та екзоцитозу. Один такий цикл триває близько години. У ендо-

цитозному пухирці або на поверхні клітини молекула  $PrP^C$  може розрізатися протеазами на дві приблизно рівні частини. До кінця механізм спонтанного виникнення пріонних інфекцій не з'ясований. Вважається також (але ще не повністю доведено), що патологічні пріони утворюються в результаті помилок у біосинтезі білків. Мутації генів, що кодують пріонний білок ( $PrP$ ), помилки трансляції, процеси протеолізу – вважаються головними кандидатами на механізм виникнення змінених пріонів.

$PrP^{Sc}$  не відрізняється від  $PrP^C$  за амінокислотною послідовністю (Stahl N. et al., 1993), але має іншу конформацію. Просторова структура рекомбінантного  $PrP^C$  вперше була визначена методом ядерного магнітного резонансу (Riek R. et al., 1996). Амінокінцевий район білка  $PrP^C$  в розчині не структурований, його карбоксикінцева частина формує глобулу й складається з трьох  $\alpha$ -спіралей й короткої ділянки з  $\beta$ -листями. Було виявлено, що  $PrP^C$  містить 42%  $\alpha$ -спіралей і 3%  $\beta$ -листя, тоді як  $PrP^{Sc}$  містить 30%  $\alpha$ -спіралей і 43%  $\beta$ -листя (шарів) (Pan K.M. et al., 1993).  $PrP^{Sc}$  характеризується нерозчинністю й високим вмістом структури  $\beta$ -листя (Prusiner S.B. et al., 1983, 1998). У зв'язку з цим дослідники зробили висновок, що набуття інфекційних властивостей білком  $PrP$  пов'язане з конформаційним переходом, за якого відбувається утворення  $\beta$ -складчастого шару. На відміну від нормальної форми  $PrP$ , його патологічна форма стійка до дії протеїнази  $K$ . Внаслідок обробки  $PrP^{Sc}$  протеїназою  $K$  утворюється протеазостійкий фрагмент з молекулярною масою 27–30 кДа (молекулярна маса  $PrP^C$  варіює від 33 до 35 кДа залежно від ступеня гликозилування) (McKinley M.P. et al., 1983). Крім того,  $PrP^{Sc}$  виявився стійким до дії ультрафіолету, ультразвуку, опромінення, кип'ятіння, фломбування (під час спалювання зразка, що містив  $PrP^{Sc}$ , протягом 10 хв, в ньому збереглося 10% інфекційної активності).  $PrP^C$  містить 2 різних домени, які відіграють різні ролі в перетворенні  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$ . Перший – це стабільний і впорядкований “серцевинний” домен, який містить ліпідний якір  $GPI$  (зв'язує  $PrP^C$  с плазматичною мембраною), 3  $\alpha$ -спіралі (спіралі  $A$ ,  $B$  і  $C$ ), 2 олігосахариди, пов'язані з аспарагінами і сайт зв'язування з білком, здатний знижувати енергетичний бар'єр для перетворення  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  коли  $PrP^C$  зв'язується з білком  $X$  (видовий кофактор, необхідний для перетворення  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$ ) (Telling G.C. et al., 1995; Kaneko K. et al., 1997). Інший домен є “варіабельним” або невпорядкованим доменом, який взаємодіє з  $PrP^{Sc}$  і змінює конформацію  $PrP^C$  з неструктурованої форми на  $\beta$ -тяжі  $PrP^{Sc}$  (Prusiner S.B. et al., 1998). Під час перетворення  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$   $\alpha$ -спіраль

як основний домен  $PrP^C$  також перетворюється в  $\beta$ -листки (DeArmon S., Bouzamondo E., 2002). Дослідники також показали, що не всі патологічні форми пріонів резистентні до протеїнази  $K$  (Gabizon R. et al., 1996). Виявлення протеазостійкого фрагмента  $PrP^{Sc}$  з молекулярною масою 27–30 кДа після обробки протеїназою  $K$  зскребку тканини мигдалеподібних залоз до цього часу використовується у діагностиці пріонних захворювань. Характерна стійкість патогенних ізоформ пріонів до протеїнази  $K$ , протягом тривалого часу вважалася патогномонічною ознакою інфекційного пріону й позначається як  $PrP^{res}$  (*resistant*). Проте, як було зазначено недавно відкрито патогенні ізоформи, чутливі до протеолізу ендопептидазою  $K$  й позначені як  $PrP^{sens}$  (*sensitive*) (Prusiner S., 1991, 1998).

$PrP$  є мембранним білком, який здебільшого експресується в клітинах центральної нервової системи й лімфоретикулярній тканині. Пріонові білки ссавців не ідентичні пріоновим білкам дріжджів за амінокислотними послідовностями. Усупереч цьому, основні структурні особливості (формування амілоїдних фібрил і їх висока специфічність, що перешкоджає передачі пріонів від одного виду організмів до іншого) у них спільні. Проте збудник губчастої енцефалопатії ВРХ має здатність долати міжвидові бар'єри (Masel J. et al., 1999). Під час досліджень мозкових тканин загинувших від пріонних інфекцій тварин було показано, що пріони не містять нуклеїнових кислот, а становлять собою білки. Одним із перших детально охарактеризованих пріонних білків став  $PrP$  (від англ. *Prion-Related Protein* або *Protease-Resistant Protein*). Отже, пріони не містять нуклеїнових кислот і, таким чином, відрізняються від всіх відомих мікроорганізмів, таких як бактерії, гриби, віруси та вірусоподібні частинки. Після багаторазових пасажів в культурі клітин було доведено, що патогенні пріон-протеїни, здатні до трансмісії (передачі), й є мутантами клітинної ізоформи нормального пріон-протеїна. Нині встановлено більш як 30 різних мутацій людського гена  $PrP$ , які пов'язані з різними пріоновими хворобами. Протеїн-пріон ( $PrP$ ) є сіалоглікопротеїдом з молекулярною масою 33000–35000 дальтон, або 33–35 кД, який кодується єдиним геном, розташованим у людини у 20 хромосомі й 2 хромосомі у миші. Ген, який кодує пріонний білок назвали  $PRNP$  (Chesebro V. et al. 1985; Oesch V. et al., 1985; Sparkes R.S. et al., 1987). Ген  $Prnp$  присутній в геномі всіх ссавців, сумчастих, а також у птахів (Gabriel J.M. et al., 1992), рептилій (Simonis T. et al., 2000) земноводних (Strumbo V. et al., 2001) і риб (Rivera-Milla E. et al., 2003; Oidtmann V. et al., 2003). Він складається

у людини приблизно з 254 амінокислот, включаючи 22-членний *N*-термінальний сигнальний пептид. Пріон *PrP<sup>C</sup>* знайдений у всіх ссавців. Його життєвий півперіод складає декілька годин, але він добре зберігається протягом розвитку (Notari S. et al., 2018). Накопичення клітинного пріонного білка *PrP<sup>C</sup>* є наслідком експресії гена *PRNP* (хромосома 20 у людини). У різних видів тварин довжина його поліпептидного ланцюга є слабко мінливою: від 252 амінокислотних залишків (а.з.) у кроля й до 264 а.з. у великої рогатої худоби. Наявність на *N*-кінці білкової молекули *PrP<sup>C</sup>* 22-членної сигнальної послідовності забезпечує котрансляційне перенесення новоутвореного поліпептидного ланцюга через мембрану ендоплазматичного ретикулу (ЕР). Під час проходження поліпептидного ланцюга через канал (*SEC61*) в стінці мембрани ЕР відбувається видалення лідерної сигнальної послідовності, а також згортання молекул в глобулу й її ковалентна модифікація. Два сайти *N*-глікозилювання типу *Asn-Ile-Thr* і *Asn-Phe-Thr* розміщені в 181 і 197 а.з. відповідно (пріонний білок людини). Розподіл ди-, моно- і неглікозильованих форм пріона може варіювати як у різних організмів одного виду, так і в межах одного організму. Глікозильовані форми білка також відрізняються, що дозволяє виділити близько 400 різних глікоформ *PrP<sup>C</sup>*. Встановлено ряд фактів щодо впливу ступеня глікозилювання пріонних білків на ефективність трансмісії пріонних захворювань, а також на процес утворення різних штамів збудника цих хвороб. Передумовою до подібної численності глікоформ пріонної молекули, можливо, є здатність до формування білком політопних мембранних форм. Виявлено, що пріонний білок людини може існувати в трьох формах: така що секритується (*secPrP*), мембранною з двома трансмембранними доменами і вільним *N*-кінцем в люмені ЕР (*N<sup>tm</sup>PrP*), мембранною з двома трансмембранними доменами і вільним *C*-кінцем в люмені ретикулу (*C<sup>tm</sup>PrP*). Рухомі трансмембранні комплекси нормальних пріонних молекул утворюють так звані плоти (*rafts*) або рецепторні комплекси, через які й взаємодіють з патогенною ізоформою *PrP<sup>d</sup>* (Prusiner S.B., 2004; Zuev V.A. et al., 2020).

Природні й індуковані мутації в гідрофобній послідовності, розміщеній в середній частині молекули, поблизу неї, а також в ділянці *N*-кінцевої ділянки, призводять до збільшення частки *C<sup>tm</sup>PrP*, яка спричинює нейродегенеративні захворювання. Встановлено, що ступінь глікозилювання пріонних білків впливає на ефективність трансмісії пріонних захворювань, а також на процес



утворення різних штамів збудника пріонної хвороби. Як уже зазначалось, до цього часу описано більш як 30 можливих мутацій пріонного білка людини, з них значна частина вірогідно пов'язана з спадковими пріонними захворюваннями. Разом із інфекційною ізоформою вони не перевищують 10–20% всіх зареєстрованих випадків пріонних захворювань, решта припадає на спорадичну форму хвороби Крейцфельда-Якоба (*CJD*) (Prusiner S.B., 2004; Chakrabortee S. et al., 2016; Zuev V.A. et al., 2020).

Як уже зазначалось, на підставі результатів досліджень й експериментальних даних у 1982 році S.B. Prusiner сформулював пріонну концепцію (Prusiner S.B., 1998). Згадана концепція складалась із наступних постулатів: – інфекційним агентом є білок  $PrP^{Sc}$ ; – інфекційний агент  $PrP^{Sc}$  може реплікувати себе за відсутності нуклеїнової кислоти, – перетворення білка із нормальної форми ( $PrP^C$ ) в інфекційну ( $PrP^{Sc}$ ) відбувається шляхом конформаційного переходу; – конформаційний перехід  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  може відбуватись спонтанно, призводячи до спорадичних форм пріонних захворювань. Хвороба може бути спричинена надходженням до організму патологічної форми  $PrP^{Sc}$  ззовні (набуті форми пріонних захворювань). Кінець кінцем, перехід може відбутись із-за мутацій в гені *PRNP*, які сприяють утворенню  $PrP^{Sc}$  із  $PrP^C$  (спадкові форми пріонних захворювань).

Як і багато амілоїдних білків, *PrP* 27–30 є протеолітичним продуктом розщеплення білка-попередника *PrP* 33–35. Однак *PrP* 33–35d не є основним продуктом білка клітинного гена. Він має амінокислотну послідовність, глікозилінозитоловий фосфоліпідний якір і посттрансляційні модифікації (такі як глікозилювання й приєднання *GPI*, глікофосфоліпідний інозитоловий якір), ідентичні таким у *PrP* 33–35c, але з зовсім іншими фізико-хімічними характеристиками (Stahl N. et al., 1990, 1992). Зокрема,  $PrP^C$  повністю руйнується внаслідок обмеженого протеолізу, але  $PrP^{Sc}$  руйнується лише частково з утворенням корового білка (*PrP* 27–30), який можна візуалізувати із застосуванням електронної мікроскопії в вигляді пов'язаних зі скрепі фібрил (*SAF*) (Merz P.A. et al., 1981, 1984) або пріонних стрижнів (Prusiner S.B. et al., 1983). Для перетворення  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  він має потрапити спочатку до клітинної поверхні, а потім рух його відбувається ендосомно-лізосомним шляхом (Borchelt D.R. et al., 1992; McKinley M.P. et al., 1991). *PrP* має глікопротеїн з двома сайтами *Asn*-глікозилювання, а відповідно, як зазначалось може існувати у вигляді деглікозилюваних, моноглікозилюваних і диглікозилюваних



ізоформ з різною електрофоретичною рухливістю, глікоформ, а також різних комбінацій глікозилювання кодона 129 генотипу який деякою мірою корелює з фенотипною експресією *TSE*. Зокрема, особливий паттерн глікозилювання унікально присутній як в *BSE*, так і в *vCJD* (Collinge J. et al., 1996; Hill A.F. et al., 1997).

Нині пріонова концепція отримала експериментальне підтвердження. Якщо розмноження  $PrP^{Sc}$  після потрапляння в організм відбувається шляхом передачі патологічної конформації на  $PrP^C$ , то організми, які не мають  $PrP^C$ , мають бути стійкими до пріонної інфекції. Ця теза була підтверджена шляхом експериментальних досліджень із використанням трансгенних мишей, які були гомозиготними щодо делеції гена *PRNP* (*PRNP0/0*). Введення суспензії мозку мишей, які були хворі на скрепі, трансгенним мишам *PRNP0/0* не призводило до розвитку хвороби внаслідок відсутності нормального  $PrP^C$  (Büeler H. et al., 1992). Крім того, виявилось, що за відсутності  $PrP^C$  не відбувається не лише реплікації пріона, але й ушкодження нервової тканини (Brandner S. et al., 1996).  $PrP^C$  також необхідний для транспортування інфекційного агента периферійними нервами до центральної нервової системи (Blättler T. et al., 1997; Glatzel M., Aguzzi A., 2000). Щодо абсолютного доведення правоти постулатів пріонної концепції, то протягом тривалого часу все це стримувалось неможливістю отримання значної кількості  $PrP^{res}$  – форми  $PrP^{Sc}$ , яка утворюється *in vitro*, й є стійкою до часткового протеолізу й здатна спричинювати захворювання в разі введення її експериментальним тваринам. Було показано, що фрагменттреком бінантного  $PrP$  миші, експресованим в *Escherichia coli*, стимулюється утворення амілоїдних фібрил *in vitro*, які в разі введення трансгенним мишам, що експресують подібний фрагмент  $PrP$ , призводить до розвитку неврологічної картини пріонного захворювання (Legname G. et al., 2004). Розробка системи циклічної ампліфікації пріонної форми білка  $PrP$  (Saborio G.P. et al., 2001), за допомогою якої можливе формування значної кількості  $PrP^{res}$  *in vitro*, дозволила отримати й продемонструвати її інфекційність (Castilla J. et al., 2005).

Початковою структурою для утворення білка  $PrP^{res}$  був  $PrP^{Sc}$  – патологічний білок із гомогенату мозку хом'яків, заражених скрепі. Інкубація мінімальної кількості  $PrP^{Sc}$  (гомогенат мозку хом'яків, хворих на скрепі, розводили в  $10^4$  рази) з надлишком  $PrP^C$  призводила до утворення агрегатів  $PrP^{res}$ . Агрегати  $PrP^{res}$  руйнували ультразвуком на більш дрібні, розводили в 10 раз суспензією, яка містила надлишок  $PrP^C$ , й інкубували знову.

В результаті багаторазового повторення циклічного процесу, який включав інкубацію  $PrP^{res}$  з  $PrP^C$ , руйнування агрегатів ультразвуком із наступним розведенням, досягалось зменшення концентрації висхідного інфекційного агента в реакційній суміші від  $10^4$  рази (в першому циклі) до  $10^{55}$  раз (в остаточному). Утворення  $PrP^{res}$  в першому циклі відбувалось на матриці (структурі)  $PrP^{Sc}$ , в наступних циклах перетворенню  $PrP^C$  в інфекційну форму сприяв  $PrP^{res}$ , отриманий *in vitro*. Біохімічні й структурні властивості  $PrP^{res}$  виявились ідентичними, властивостям  $PrP^{Sc}$ , ізольованих з мозку хворих тварин. Інтрацеребральне введення  $PrP^{res}$  здоровим хом'якам індукувало у них прояв скрепі й призводило до смерті. Гістологічний аналіз мозку загиблих тварин показав губчасту дегенерацію нервової тканини, яка не відрізнялась від такої у тварин, заражених  $PrP^{Sc}$ , отриманим *in vivo*. Проте виявилось, що  $PrP^{res}$  має значно меншу інфекційність, ніж патологічний білок, отриманий *in vivo*. Причини таких відмінностей в інфекційності поки не є зрозумілими до кінця. Метод циклічної ампліфікації пріонного інфекційного агента виявився доволі ефективним під час діагностики губчастих енцефалопатій людини, оскільки дозволяє виявити  $PrP^{Sc}$  в тканинах і біологічних рідинах людини на ранніх стадіях розвитку хвороби (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Таким чином, процес накопичення інфекційного пріонного білка відбувається не в результаті синтезу в зараженому організмі молекул  $PrP^{Sc}$  *de novo*, а внаслідок конформаційних змін уже синтезованих нормальних молекул  $PrP^C$  під впливом молекул інфекційного пріонного білка  $PrP^{Sc}$ . Є підстави вважати, що в цьому процесі певну роль відіграє ще якийсь невідомий білок, який виконує функцію шаперона. Процес накопичення інфекційного пріонного білка передбачає передусім необхідність контакту двох молекул. Внаслідок чого під впливом однієї молекули  $PrP^{Sc}$  відбувається трансформація тої, що контактує з нею однієї молекули  $PrP^C$  в інфекційну форму. Таким чином, в організмі тепер утворюються дві молекули  $PrP^{Sc}$ . Наступний етап включає вже вплив двох молекул  $PrP^{Sc}$ , під впливом яких одразу утворюються ще дві (тепер їх буде чотири) молекули  $PrP^{Sc}$  й т.д. Відповідно, процес накопичення інфекційного пріонного білка має лавиноподібний характер. Неправильне упакування поліпептидного ланцюжка призводить до того, що здебільшого мономерний цитозольний або мембранний білок починає агрегувати й формувати стійкі до протеолітичного розщеплення агрегати, які можуть випадати в осад всередині або поза клітиною, взаємодіяти

з певними рецепторами на поверхні клітини й тим самим ініціювати загибель нейронів через запуск програмованої смерті (апоптоз) й призводити до тяжких ушкоджень головного мозку.

Агреговані білки здатні захоплювати й утримувати в складі конгломератів важливі для клітини фактори транскрипції, внутрішньоклітинні протеолітичні ферменти і цитоскелетні білки. Все це може призводити до незворотних ушкоджень клітини. Клітина намагається позбутися нерозчинних білкових агрегатів і з цією метою починає посилено синтезувати різні активні форми кисню (супероксид-аніон, перекиси). Ці сполуки спричинюють окиснення білків і ліпідів, ушкоджують мембрани мітохондрій і клітин, і таким чином, також можуть бути причиною загибелі клітин. Кінець кінцем, неправильно згорнуті білки можуть вбудовуватися в мембрани (вважають, що це може відбуватись з пріонами) й утворювати канали, за якими в клітину можуть потрапляти іони. Останнє призводить до порушення іонного балансу, деполаризації мембрани й загибелі клітини. Пріонні хвороби тварин і людини належать до “конформаційних” хвороб. Хвороби цього типу спричинені порушенням процесів формування просторової структури декількох білків, які призводять до змін клітинної фізіології. Поряд з пріонними хворобами до “конформаційних” також належать амілоїдні хвороби, такі як хвороби Альцгеймера, Хангтінгтона й Паркінсона. За амілоїдних і пріонних хвороб відбувається поза- або внутрішньоклітинне накопичення білкових агрегатів фібрилярної структури, які складаються з розчинних у нормі клітинних білків (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Накопичення нерозчинних агрегатів поза клітиною призводить до розвитку різних запальних реакцій. В ділянках відкладання білкових агрегатів спостерігається накопичення спеціальних білків, факторів росту і цитокінів. Всі ці процеси можуть певною мірою сприяти руйнуванню білкових агрегатів, але одночасно можуть спричинювати тяжкі ураження сусідніх клітин і призводити кінець кінцем до їх загибелі. Крім того, спонтанні форми трансмісивних спонгіформних енцефалопатій можуть бути зумовлені як точковими соматичними мутаціями, так і спонтанним утворенням неправильно згорнутих форм пріона в окремих клітинах. В цьому разі зараження сусідніх клітин може відбуватись тому, що білки, закріплені шляхом глікоінозитол-фосфоліпідного “якоря” ззовні плазматичної мембрани, можуть доволі легко мігрувати між сусідніми клітинами.

Може видатись, що якщо пріонні хвороби спричинюються одним білком, то клінічні прояви і розвиток хвороб мають бути подібні між собою. Проте це не зовсім так. Один і той же пріон може спричинювати різні за тяжкістю хвороби, в цьому разі вогнища ураження головного мозку розміщені в різних ділянках, а швидкість і перебіг захворювання також суттєво відрізняються. Більш того, якщо пасажувати пріони (перенесення від одної тварини до іншої), то виявляється що всі властивості останніх зберігаються (Aguzzi A. et al., 2001; Alperovitch A. et al., 1999; Budka H. et al., 1995; Gambetti P. et al., 2003; Glatzel M. et al., 2003, 2005; Valleron A.J. et al., 2001).

Таким чином, якщо патогенним пріоном від тварини яка хворіє із доволі повільним розвитком хвороби, заразити інтактну тварину, то розвиток захворювання в неї також буде відбуватись повільно. А локалізація вогнищ ураження буде збігатися з локалізацією уражень в тварини від якої першопочатково відібраний матеріал. Навпаки, якщо інфекційний матеріал було отримано від тварини, де розвиток пріонової хвороби був швидким, то й у тварини-реципієнта розвиток пріонової хвороби буде швидким і вогнище ураження буде розміщуватися в тому ж місці, що й у тварини-донора. Тому в літературі введено поняття ліній пріонових хвороб. Молекулярні механізми виникнення таких ліній залишаються доволі загадковими, однак вважається, що пріони різних ліній відрізняються за ступенем глікозилювання, гідроксилювання залишків проліну або за своєю просторовою структурою. Скоординовані з нормальними пріонами, такі неправильно упаковані білки можуть створити лише свою дзеркальну копію, і тому в зараженій клітині синтезується лише один із небагатьох неправильно упакованих варіантів пріона. Ймовірно, саме з цієї причини стає можливим виникнення численних ліній пріонових хвороб. Як уже зазначалось, утворення неправильної конфігурації білка є причиною не лише різних пріонових хвороб, але й лежить в основі багатьох інших нейродегенеративних захворювань (Gambetti P. et al., 2003; Ritchie D.L. et al., 2017; Cali I. et al., 2018).

Отже, механізм накопичення інфекційного пріонового білка в зараженому організмі нині точно не відомий. Однак є відомості про посттрансляційний процес й це дає підставу вважати, що інфекційний пріоновий білок спричинює в здоровому до цього організмі трансформацію нормального (клітинного) пріонового білка в інфекційну форму внаслідок його конформаційних (просторових) змін. В цьому разі мова йде про зміну третинної або навіть четвертинної структури

висхідного білка  $PrP^C$ . У разі “звичайної” інфекції, для відповідної трансформації необхідна зустріч нормальної молекули й інфекційного пріону. Існує два шляхи передачі цієї молекули: спадковий (внаслідок мутацій в гені, який кодує білок) і інфекційний. Тобто впровадження пріона може відбуватись, наприклад під час споживання в їжу м'яса (в якому присутні форми  $PrP^{Sc}$ ), під час переливання крові, під час трансплантації органів і тканин, під час введення в організм людини гормонів гіпофіза тваринного походження. Ось саме після таких контактів нормального й патологічного пріонів, перші перетворюються в них, змінюючи свою просторову структуру (механізм трансформації до цього часу до кінця не розшифровано). Пріон, як справжній інфекційний агент, заражає нормальні молекули, запускаючи ланцюгову реакцію, яка є руйнівною для клітини (Abramova Z.I., 2006).

Таким чином, вирішальною подією в розвитку пріонного захворювання є структурні й конформаційні зміни  $PrP^C$  в асоційовану з захворюванням неправильно згорнуту форму,  $PrP^{Sc}$ . Як уже зазначалось, це перетворення змінює  $PrP^C$  із білка, що характеризується наявністю  $\alpha$ -спіралей, в частково стійкий до протеаз неправильно згорнутий білок, який класифікують як  $\beta$ -листки (Pan K.M. et al., 1993). Протеїназа  $K$  ( $PK$ ) частково перетравлює  $PrP^{Sc}$  і часто ця методика використовується для визначення присутності неправильно згорнутого  $PrP^{Sc}$  (Silva C.J. et al., 2015). Всупереч тому, що це перетворення важливе для патогенезу пріонної хвороби, молекулярні основи такого явища до цього часу ще не вивчені. Вважається, що перетворення є посттрансляційною зміною конформації, яка ініціює каталітичне перетворення  $PrP^C$  в значну кількість  $PrP^{Sc}$  шляхом взаємодії з наявними молекулами  $PrP^{Sc}$ . Безперервний синтез  $PrP^C$  в головному мозку лише забезпечує додатковий субстрат для патологічного перетворення в  $PrP^{Sc}$ . Хоча останнє здебільшого відбувається після впливу вже неправильно згорнутого  $PrP^{Sc}$ , конверсія може відбуватись спонтанно або через генетичне підґрунтя. Між  $PrP^C$  і  $PrP^{Sc}$  відсутні відмінності в первинних послідовностях, тому зміни опосередковуються різними вторинними структурами й схильністю до агрегування. Ці патологічні зміни торкаються лише пріонного білка (Laurent M., 1996). Неспростовні докази того що  $PrP^{Sc}$  є провідною причиною пріонного захворювання, ґрунтуються на результатах продукування інфекційного  $PrP^{Sc}$  *in vitro* (Castilla J., 2005). Тому яким би не був механізм, це перетворення є основою всіх пріонних захворювань.

Попри високу експресію в тканинах центральної нервової системи (ЦНС), *PrP<sup>C</sup>* також виявлений в селезінці, лімфатичних вузлах, шкірі, шлунково-кишковому тракті і фолікулярних дендритних клітинах, рогівці ока. Експресія починається на ранній стадії ембріогенезу, й у дорослих найбільш високі рівні спостерігаються в нейронах, в цьому разі помірна експресія спостерігається в гліальних клітинах і периферійній нервовій системі (Peralta O.A. et al., 2012). Адже після інфікування й реплікації в ЦНС відбувається розповсюдження пріонів по периферійним нервам до інших тканин, де відбувається вторинна реплікація (Gough K.C., Maddison B.C., 2010) Секреція пріонів із інфікованого організму в доквілля відбувається з екскрементами, сечею, слиною, грудним молоком, шкірними виділеннями.

Людський *PrP<sup>C</sup>* синтезується як поліпептид із 231 амінокислот (після видалення сигнального пептиду із 22 залишків) (Vamborough P. et al., 1996), який процесується через ендоплазматичний ретикулум (*ER*, *ER*) і апарат Гольджі. Посттрансляційні модифікації, включно з видаленням сигнальної послідовності з *C*-кінцевого закінчення *PrP<sup>C</sup>*, призводять до формування зрілого білка довжиною 208 амінокислот. Основними структурними особливостями є глобулярний *C*-кінцевий домен, який складається із трьох  $\alpha$ -спіралей з невеликим антипаралельним  $\beta$ -листом, що складається із двох окремих ланцюгів, і неструктурованого гнучкого *N*-кінцевого хвоста (Peralta O.A. et al., 2012).

Отже, тримірна структура *PrP<sup>C</sup>* здебільшого розміщується на клітинній мембрані й асоціюється з багатими холестерином мікродоменами (плотами) в культивованих не нейрональних і нейронних клітинах. Незрілий білок *PrP<sup>C</sup>* має довжину приблизно 253 амінокислотних залишку і масу 32–35 кДа й складається з неструктурованої *N*-кінцевої ділянки і структурованого *C*-кінцевого домена. *C*-кінцеві домени складаються з 3  $\alpha$ -спіралей,  $\beta$ -листіків, який складається із 2 антипаралельних  $\beta$ -стіжок (Alfonso D.S. et al., 2007), і сигнальної послідовності для прикріплення якоря *GPI* (Mehrpour M., Codogno P., 2010). Неструктурований *N*-кінцевий домен містить октаповторення й гідрофобну область. Для того, щоб сформувати зрілий білок, *PrP<sup>C</sup>* зазнає ряд посттрансляційних модифікацій, які ініціюються видаленням *N*-кінцевих і *C*-кінцевих сигнальних пептидів, що збігається з імпортом ланцюга, що зароджується, в ендоплазматичний ретикулум і прикріпленням якоря *GPI*. Два *N*-зв'язаних глікана також приєднані, і за ними йде дисульфідний

зв'язок між Cys178 і Cys213 (Linden R. et al., 2008; Stewart R., Harris D., 2003). Цей дисульфідний зв'язок важливий, оскільки він з'єднує С-кінцеві  $\alpha$ -спірали, й забезпечує стабілізацію складки білка  $PrP^C$  (Welker E. et al., 2002).  $PrP^C$  (довжина якого становить 210 амінокислотних залишків (Linden R. et al., 2008) потім націлюється на зовнішній листок плазматичної мембрани шляхом  $GPI$ -якоря (Linden R. et al., 2008; Stewart R., Harris D., 2003).  $PrP^C$  також може піддаватися 2 подіям ендопротеолітичного розщеплення (Hooper N., 2005) Нормальне конститутивне розщеплення, відоме як  $\alpha$ -розщеплення (Mange A. et al., 2004), відбувається в мозку і в культивованих клітинах між залишками 110 і 111. Це розщеплення стимулюється агоністами білка через кіназу  $C$  (Vincent B. et al., 2000), й призводить до утворення розчинного  $N$ -кінцевого фрагмента 9 кДа і  $C$ -кінцевого фрагмента 17 кДа, який залишається прикріпленим до клітинної мембрани через  $GPI$  якір (Pan K. et al., 1992; Jimenez-Huete A. et al., 1998; Nieznanski K. et al., 2005). Друге розщеплення, відоме як  $\beta$ -розщеплення (Hooper N., 2005), опосередковується реактивними формами кисню ( $ROS$ ) (Hooper N., 2005; Watt N. et al., 2005), й призводить до утворення  $GPI$ -заякореного  $C$ -кінцевого фрагмента і 7 кДа  $N$ -кінцевого фрагмента (Jimenez-Huete A. et al., 1998; Nieznanski K. et al., 2005; Taraboulos A. et al., 1992). Потім  $PrP^C$  може піддаватися третьому розщепленню (відомому як шеддинг ектодомена), під час якого  $PrP^C$  розщеплюється в сайті, близькому до якоря  $GPI$ , вивільняючи таким чином майже повнорозмірний білок  $PrP^C$  із плазматичної мембрани у позаклітинне середовище. Було показано, що це протеолітичне розщеплення здійснюється шеддазою  $ADAM10$  (Taylor D.R. et al., 2009; Altmeyren H.C. et al., 2011; Stahl N. et al., 1990). Вивільнення  $PrP^C$  з поверхні клітини було продемонстровано не лише в клітинній культурі, але також в нейрональних і лімфоїдних клітинах *in vivo* (Taylor D.R. et al., 2009; Parizek P. et al., 2001; Tagliavini F. et al., 1992; Parkin E.T. et al., 2004).

**Функції пріонів.** Точні функції  $PrP^C$  залишаються незрозумілими. Одна з найбільш важливих передбачуваних функцій  $PrP^C$  – підтримання мієлінізації (процес утворення біліпідного мієлінового шару навколо аксону) в периферійній нервовій системі (Wulf M.A. et al., 2017; Bremer J. et al., 2010). Відомо що нейрон-специфічної експресії  $PrP^C$  достатньо для підтримання мієлінізації, оскільки, хоча  $PrP^C$  експресується в швановських клітинах, він, імовірно, не виконує там суттєвої ролі (Bremer J. et al., 2010).

*PrP<sup>C</sup>* є білком, який зв'язує іони металів. Він зв'язує мідь і цинк з високою афінністю, а катіони марганцю й нікелю – з більш низькою афінністю (Brown D.R. et al., 1997; Kubosaki A. et al., 2001; Herms J. et al., 1999; Collinge J. et al., 1994; Lledo P. et al., 1996). У зв'язуванні міді беруть участь залишки гістидину, розміщені всередині октаповторів ділянки *N*-кінцевого домену (Jackson G. et al., 2001; Walter E.D. et al., 2007), хоча недавні дослідження виявили додаткові сайти зв'язування міді (Walter E.D. et al., 2009). Оскільки *N*-кінцевий домен також бере участь в зв'язуванні *PrP<sup>C</sup>* до певної кількості білкових лігандів, була висунута гіпотеза, що зв'язування міді може відігравати структурну роль і впливати на зв'язування *PrP<sup>C</sup>* з іншими білками (Kretzschmar H. et al., 2000).

На підтвердження можливої фізіологічної ролі *PrP<sup>C</sup>* в гомеостазі міді було показано, що миші з дефіцитом *PrP<sup>C</sup>* (*PRNP null*) демонструють на 50% меншу концентрацію міді у фракціях синапсом у порівнянні з мишами дикого типу. Останнє передбачає, що *PrP<sup>C</sup>* може брати участь в регуляції концентрації міді в синаптичній області нейрона, наприклад, відіграючи певну роль в поглинанні міді пресинаптичними клітинами (Kretzschmar H. et al., 2000). Крім того, було показано, що ендоцитоз *PrP<sup>C</sup>* стимулюється в разі додавання міді до клітин нейробластоми, які культивувалися (Pauly P., Harris D., 1998). Останнє також вказує на те, що *PrP<sup>C</sup>* функціонує як мідний буфер, зв'язуючи мідь і передаючи її іншому мембранному транспортеру (Lasmezas C., 2003). Qin K. et al. (2009) повідомили, що в мишачих нейро-2a і в перещеплюваних людських клітинах *HeLa* ендегенний *PrP<sup>C</sup>* швидко реагує з  $Cu^{2+}$ . Адже  $Cu^{2+}$  збільшує експресію *PrP<sup>C</sup>* через активацію транскрипції, опосередкованої мутантним фактором транскрипції атаксія-телангіектазія (*ATM*). Підвищення експресії *PrP<sup>C</sup>* захищає клітину від окислювального стресу, який спричинює мідь (відповідно, попереджає загибель клітин), відіграючи роль в модуляції концентрації внутрішньоклітинної міді. Було показано, що *PrP<sup>C</sup>* діє як модулятор концентрацій тяжких металів, захищаючи клітини від утворення тяжких металів і, відповідно, окислювального стресу. Крім того, виявилось, що клітини з повнорозмірним *PrP<sup>C</sup>* більш стійкі до хронічного перевантаження важкими металами (міддю, цинком, нікелем і марганцем), ніж їх *PrP*-аналоги (Prcina M. et al., 2015).

Передбачають, що передача сигналу *PrP<sup>C</sup>* модулює різні компоненти сигнального шляху, бере участь в проліферації, клітинній адгезії, трансмембранній передачі сигналів, диференціюванні і транспортуванні (Vassallo N. et al., 2005; Chiarini L.B. et al., 2002). *PrP<sup>C</sup>*



відіграє певну роль у захисті від стресу, особливо окиснювального й окремих апоптичних стресів (Kuwahara C. et al., 1999; Bounhar Y. et al., 2001; Zeng F. et al., 2003).

Повідомлялось, що *PrP<sup>C</sup>* відіграє певну роль в розвитку, активації і проліферації *T*-лімфоцитів. Було виявлено, що *PrP<sup>C</sup>* фізично взаємодіє з білком передачі сигналу, який відіграє важливу роль в активації і проліферації *T*-лімфоцитів (білок, пов'язаний з зеталанцюгом (*ZAP-70*) (Mattei V. et al., 2004). Крім того, експресія інтерлейкіну-2 зростає під час експресії *PrP<sup>C</sup>* (Bainbridge J. et al., 2005). Ці спостереження вказують, що *PrP<sup>C</sup>* бере участь в розвитку, активації і проліферації *T*-лімфоцитів. Крім того, одне з досліджень показало, що розчинна рекомбінантна форма *PrP<sup>C</sup>* активує природні клітини-кілери людини через шляхи передачі сигналів *ERK* і *JNK*, сприяючи індукованій *IL-15* (інтерлейкін) проліферації природних клітин-кілерів, а також індукції фосфорилування *ERK1/2* і *JNK* (Seong Y.J. et al., 2015).

*PrP<sup>C</sup>* захищає від запрограмованої загибелі клітин. Дослідження функції *PrP<sup>C</sup>* в ЦНС показали, що його відсутність в нейронах гіпокампа призводить до апоптичної (запрограмованої) загибелі клітин (Kuwahara C. et al., 1999). *PrP<sup>C</sup>* також має структурну подібність з доменом *BH2* членів родини *B*-клітинної лімфоми (*Bcl*)-2, що дозволяє зауважити, що *PrP<sup>C</sup>* може також функціонувати як член цієї родини білків (Roucou X. et al., 2004). Було продемонстровано, що *in vitro* *PrP<sup>C</sup>* захищає людські нейрони від клітин, опосередкованих *Bcl*-2-зв'язаним *X*-білком (*Bax*) *death*, (Bounhar Y. et al., 2001; Martinou J. et al., 2001). Коли *Bcl*-2 і *Bax* коекспресуються, то вони попереджають гіперактивацію апоптозу, індукованого *Bax*. Так само коекспресія *PrP<sup>C</sup>* з *Bcl*-2 також попереджає індуковану *Bax* загибель клітин, що означає те, що *PrP<sup>C</sup>* може відігравати певну роль в захисті нейронів від *Bax*-індукованої загибелі клітин (Roucou X. et al., 2004, 2005).

Існують також свідчення того, що *PrP<sup>C</sup>* допомагає у регулюванні збудливості нейронів і формуванні пам'яті (Mallucci G.R. et al., 2002; Nishida N. et al., 1997). *PrP<sup>C</sup>* також беруть участь у регулюванні циркадних (добових) ритмів (Sánchez-Alavez M. et al., 2007) і клітинної диференціації (Lopes M.H. et al., 2005; Loubet D. et al., 2012). Численна кількість біологічних функцій *PrP<sup>C</sup>* призвела до того до того, що дослідники висунули гіпотезу про те що він є каркасним білком, який регулює утворення різних мультибілкових комплексів. Навіть нині є малоймовірним, що усі фізіологічні ролі *PrP<sup>C</sup>* були виявлені (Sakudo A. et al., 2006, 2009; Castle A.R.; Gill A.C., 2017).

Так, наприклад, існує гіпотеза, що через пріони здійснюється механізм генетично зумовленого стохастичного старіння. Існують, так звані, стохастичні або, як їх ще називають імовірнісні теорії. Відповідно до цієї групи теорій, старіння – результат випадкових процесів на молекулярному рівні. Окремі дослідники вказують на те, що фізіологічні пріони придушують процеси старіння, адже саме цим пояснюють певну подібність у клінічному прояві деяких пріонних хвороб з геронтологічними хворобами мозку.

Для репродукції пріонів необхідна наявність певної кількості нормально укладеного клітинного пріонного білка; в організмів, із відсутністю нормальної (фізіологічної) форми пріонного білка, не виникають пріонні захворювання. *PrP<sup>Sc</sup>* (скрепіподібна або патологічна форма пріону) є надзвичайно стабільною й накопичується в ураженій тканині, спричинюючи її ушкодження, й згодом – відмирання (Dobson, С.М., 2001). Стабільність пріонної форми означає, що пріони є стійкими до денатурації в разі дії хімічних або фізичних чинників, звідси їх знищення або стримання росту є проблематичним. Як уже зазначалось, дослідники вказують на наступні властивості пріонів: – пріонний білок включає 254 амінокислотних залишки й “має масу” – 33–35 кД; – ген, що кодує білок *PrP*, виявляють у людини, ссавців і птиці; – для остаточного знищення пріонного білка потрібна температура не менше 1000°C; – в разі розвитку пріонних захворювань відсутні ознаки запалення й зміни в крові; – є гіпотеза, що пріони мають відношення до розвитку шизофренії й міопатії (Abramova Z.I., 2006; Prudnikova S.V., 2008).

Таким чином, *пріонні хвороби* (інфекції) – категорія трансмісивних нейродегенеративних хвороб людини і тварин із групи повільних інфекцій, виділених на основі загальної пріонної етіології й провідної патогномонічної ознаки – надзвичайно тривалого інкубаційного періоду, повільно поступального перебігу, патологоанатомічних змін спустошливого характеру виключно у нервовій тканині. Під час цих інфекцій завжди відсутні ознаки інфекційного запалення, відсутня імунна відповідь, хвороба завжди закінчується летально. Тривалий інкубаційний період потрібний для реплікації й накопичення пріонів в тканинах ЦНС, крім того, накопичення пріонів також відбувається в лімфоретикулярній системі (лімфатичні вузли, пейсерові бляшки тонкого кишківника), кінцево реплікація патологічних пріонів в центральній нервовій системі призводить до загибелі нейронів, активації астроцитів; тканина мозку набуває губчастої морфології. Таким чином, патологічні пріони

спричинюють хвороби – трансмісивні губчасті (спонгіформні) енцефалопатії (ТГЕ, ТСЕ) від англ. *Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE)*(Brown P., 2008; Glatzel M. et al., 2005; Appleby B.S. et al., 2018; Pokrovskii V.I. et al., 2004). Трансмісивні спонгіформні енцефалопатії – це унікальні пріонові хвороби, які можуть бути *спадковими, спорадичними й інфекційними* (Aucouturier P., Carnaud C., 2002). Вони мають тривалий інкубаційний період. Їх симптоми стають очевидними, коли лікування вже неефективне й стан хворого різко погіршується. Збудниками *TSE* є патологічно змінені пріони. Нормальні пріони присутні в багатьох частинах тіла, однак переважно в мозку й нервовій системі. Людина може бути інфікована *TSE* двома шляхами: *спадковий шлях передачі* за Менделем (аутосомно-домінантний тип спадковості); *через трансмісію збудника* (аліментарний, гематогенний, під час трансплантації органів і тканин тощо). Таким чином, *TSE* – унікальні хвороби, які є інфекційними, й спадковими одночасно. Відкриття пріонів тісно пов'язано з історією відкриття й становлення вчення про повільні інфекції, коли в 1954 р. В. Sigurdsson виклав результати своїх багаторічних досліджень масових захворювань серед овець на *scrapie*, завезених в 1933 році з Німеччини на о. Ісландія для розвитку каракулівництва. Попри очевидні клінічні відмінності й різну локалізацію ушкоджень органів і тканин, В. Sigurdsson зумів виявити серед захворювань, які він вивчав певні подібні характеристики, які в сучасному вигляді підсумовано 4 головними принципами, що відрізняли повільні інфекції: незвично тривалий (місяці і роки) інкубаційний період; повільно поступальний характер перебігу; характерна особливість ураження органів і тканин; невідворотність смертельних наслідків. Серед вивчених В. Sigurdsson захворювань овець була давно відома в усьому світі скрепі, яка повністю відповідає усім чотирьом принципам (характеристикам) повільних інфекцій.

В таблиці 1 наведені пріонні хвороби тварин і людей.

Ізоформи пріонного білка (*PrP*) є причиною трансмісивних губчастих енцефалопатій (*TSE*)(Prusiner S.B., 1991), включно зі скрепі овець, хронічною виснажливою хворобою (*CWD*) у оленів, губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби (*BSE*) (“сказ корів”) і хворобою Крейцфельда-Якоба (*CJD*) у людей. Всі відомі пріонні хвороби ссавців впливають на структуру мозку або інших нервових тканин; всі вони прогресують, не мають ефективних методів лікування й завжди закінчуються смертю (Prusiner S.B., 1998).

Таблиця 1 – **Пріонні хвороби тварин і людей** (Prusiner S.B., 1991, 1998; Fernández-Borges N. et al., 2017; Hussein M.F., Al-Mufarrej S.I., 2004; Pedersen N.S., 2004; Sejvar J.J. et al., 2008; Bonda D.J. et al., 2016; Schmitz M. et al., 2017).

Вид тварин, який уражується	Хвороба	<i>PrP</i> ізоформа
Вівці, кози	Скрепі	<i>OvPrP<sup>Sc</sup></i>
Корови	Губчаста енцефалопатія ВРХ	<i>BovPrP<sup>Sc</sup></i>
Норки	Трансмівна енцефалопатія норок	<i>MkPrP<sup>Sc</sup></i>
Білохвості олені, вапити, лосі, чорно- хвості олені	Хронічна виснажлива хвороба ( <i>CWD</i> )	<i>MDePrP<sup>Sc</sup></i>
Коти	Губчаста енцефалопатія котячих	<i>FePrP<sup>Sc</sup></i>
Антилопа ньяла, орикс, великий куду	Губчаста енцефалопатія екзотичних копитних ( <i>EUE</i> )	<i>NyaPrP<sup>Sc</sup></i>
Страус	Губчаста енцефалопатія (випадки передачі не зафіксовані)	
Людина	хвороба Крейцфельда-Якоба ( <i>CJD</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	ятрогенна хвороба Крейцфельда- Якоба ( <i>iCJD</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	варіант хвороби Крейцфельда-Якоба ( <i>vCJD</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	спадкова хвороба Крейцфельда- Якоба ( <i>fCJD</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	спорадична хвороба Крейцфельда- Якоба ( <i>sCJD</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	синдром Герстмана-Штрауслера- Шейнкера ( <i>GSS</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	Фатальне сімейне (родинне) безсон- ня ( <i>FFI</i> )	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>
	Куру	<i>HuPrP<sup>Sc</sup></i>

Пріонна хвороба – це різновид протеопатії або хвороба структурно аномальних білків. Пріонні захворювання людини характеризуються наявністю губчастих змін, гліозу, амілоїдозу й втрати нейронів. Спонгіоз це власне вакуолізація, яку ми можемо побачити в фіксованій тканині головного мозку. Іншими загальними рисами є проліферація астроцитів і загибель нейронних клітин, а нерозчинні амілоїдні бляшки, які містять агрегати протеазорезистентного пріонного білка (*PrP<sup>Sc</sup>*), часто взаємопов’язані з пріонними захворюваннями. Що стосується нейродегенерації, то пріонні захворювання передаються між членами одного й того ж виду, а часто і між видами (савців), хоча й не вільно, оскільки існують видові бар’єри. Як уже зазначалось, вони можуть бути спорадичними, сімейними або набутими. Найбільш розповсюдженою є *CJD*; до інших хвороб

людини належать Куру, фатальне родинне безсоння (*FFI*) і хвороба Герстмана-Штрауслера-Шейнкера (*GSS*). Хоча всі вони спричинені неправильним компонуванням *PrP<sup>C</sup>*, ці хвороби реєструються часто й спостерігаються доволі різні патологічні і біохімічні характеристики. Ці хвороби також можуть уражати різні ділянки мозку, й звідси такі відмінності в розвитку, перебігу й симптомах. Мутації в *PRNP* спричинюють спадкове пріонне захворювання, на яке припадає приблизно 15% пріонних захворювань, які спричинюють широкий спектр клінічних фенотипів (Kovács G.G. et al., 2002). Так звані конформаційні хвороби пов'язані з трансформацією  $\alpha$ -спіральної ділянок білкової молекули в ригідні  $\beta$ -листові з наступною агрегацією й полімеризацією таких молекул в токсичні для клітин амілоїдні сфероїди і фібрили (внутрішньокліткові депозити, “бляшки”) (Chimon S. et al., 2007). Список білків, здатних формувати амілоїдні агрегати, поступово розширюється. Найбільш відомі:  $\beta$ -амілоїд і таубілок (хвороба Альцгеймера), пріонний білок БКЯ,  $\alpha$ -синуклеїн (хвороба Паркінсона), хантингтін (хвороба Хантінгтона),  $\beta_2$ -мікроглобулін (діалізний амілоїдоз). Амілоїдоза розвивається повільно, часто десятиріччями. Амілоїдоза розподіляється на неінфекційні (“вікові” нейродегенеративні хвороби) й інфекційні – трансмісивні спонгіоформні (губчасті) енцефалопатії (пріонні хвороби) – куру, БКЯ, скрепі овець тощо. Пріонними є також спадкові хвороби, як синдром Герстмана-Штрауслера-Шейнкера і фатальне родинне безсоння людини (Chimon S. et al., 2007; Chugunov A., 2007).

Спадкові пріонні захворювання (на відміну від спорадичних) здебільшого мають більш ранній початок, але більш тривалий розвиток і повільне прогресування. Ці мутації є аутосомно-домінантними й можуть призводити або до збільшення октапептидного повтору в нормальній послідовності пріонного білка, або до неконсервативної точкової мутації, або до вставки стоп-кодона в відкритий *PRNP* рамки зчитування (*ORF*). Останнє може бути пов'язане з регіональними відмінностями накопичення *PrP<sup>Sc</sup>* в головному мозку й уражених нейронах. Вважається, що останнє є результатом дії багатьох факторів, включно зі специфічною взаємодією різних конформерів білків, а також відмінностей регіонально-специфічних мікросередовищ, які містять різну комбінацію металів, білків-шаперонів і трансляційний апарат (Jackson W.S., 2014). В таблиці 2 наведена коротка характеристика трьох категорій пріонних захворювань із визначенням їх критеріїв (Atkinson C.J. et al., 2016).

Таблиця 2 – Характеристика трьох категорій пріонних захворювань

Категорія	Пріонне захворювання	Основні характеристики	Джерело
1.	Скрепі; спорадична, сімейна й ятрогенна <i>CJD</i> ( <i>sCJD</i> , <i>fCJD</i> , <i>iCJD</i> ); <i>BSE</i> ; <i>kuru</i> ; спорадична й сімейна форми фатального безсоння ( <i>sFI</i> , <i>fFI</i> )	Вакуолярна (губчаста) дегенерація сірої речовини, накопичення резистентних до протеаз <i>PrP<sup>Sc</sup></i> в сірій речовині, утворення бляшок на амілоїді <i>PrP</i> в незначній кількості або його відсутність.	DeArmon S, Bouzamondo E., 2002.
2.	Домінантні спадкові синдроми ( <i>GSS</i> )	Відкладання чисельних <i>PrP</i> -імунопозитивних амілоїдних (аномальних білків) бляшок в декількох коркових і підкоркових ділянках мозку. Мутація <i>PRNP</i> .	DeArmon S, Bouzamondo E., 2002; Ghetti B. et al., 1996.
3.	Варіант <i>CJD</i> ( <i>vCJD</i> )	Відкладання амілоїду <i>PrP<sup>Sc</sup></i> , вакуолізація сірої речовини, накопичення резистентних до протеаз <i>PrP<sup>Sc</sup></i> в нейропілі (простір між тілами нейрональних і гліальних клітин, складається із дендритів, аксонів, синапсів, мікросудин і гліальних процесових клітин).	DeArmon S, Bouzamondo E., 2002; Ghetti B. et al., 1996; Scott M.R. et al., 1996; Will R.G. et al., 1999; Spocter M.A. et al., 2012.

Наприклад, під час *FFI* нейродегенерація відбувається в таламусі, що є причиною безсоння, пов'язаного з цим пріонним захворюванням із-за участі таламуса в регуляції сну (Gambetti P. et al., 2003; Collins S. et al., 2001). Під час Куру патологічні зміни часто розвиваються в мозочку, що призводить до порушення координації, тоді як *GSS* має більш широкий спектр клінічних проявів, від атаксії мозочка до спастичного парепеза, часто в поєднанні з деменцією (Collins S. et al., 2001). Під час *CJD* уражується переважно кора головного мозку (Montagna P. et al., 2003), що призводить до розумових порушень, зміни настрою і різних порушень зору. Отже, патологічні пріони у людей є причиною хвороби Крейтцфельдта-Якоба (*CJD*), її варіанта (*vCJD*) (Barron R.M., 2014), синдрому Герстмана-Штреуслера-Шейнкера (*GSS*), фатального сімейного безсоння (*FFI*) і куру (Belay E.D., Schonberger L.B., 2005). Гістопатологічні особливості пріонних захворювань людини і тварин є практично ідентич-

ними (Nathanson N. et al., 1997). Існують також докази того, що пріони можуть відігравати певну роль у виникненні хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, хвороби Хантінгтона, лобно-скроневої часткової дегенерації з убіквітин-позитивними включеннями (*FTLD-U*), й бічного аміотрофічного склерозу (БАС) (Lauren J. et al., 2009; Olanow C.W., Brundin P., 2013; Goedert M., 2015; Lee, S., Kim, H-J., 2015; King O.D. et al., 2012). Пріони також мають відношення до деяких форм системного амілоїдозу, включно з амілоїдозом *AA* (вторинний амілоїдоз), який розвивається у людей і тварин з запальними й інфекційними захворюваннями, такими як туберкульоз, хвороба Крона, ревматоїдний артрит і ВІЛ-СНІД. Амілоїдоз *AA*, як і пріонна хвороба, можуть бути трансмісивними (Murakama T. et al., 2014). Останнє призвело до появи “пріонної парадигми”, згідно з якою нешкідливі білки можуть бути перетворені в патогенну форму незначною кількістю неправильно згорнутих білків (Jucker M., Walker L.C., 2013). Окремі дріжджові білки також були ідентифіковані як такі що мають пріоногенні властивості (Alberti S. et al., 2009; Aguzzi A., 2008). Реплікація пріонів піддається впливу епімутації й природному відбору, як і інші форми реплікації, й їх структура незначно варіюється між видами (Li J. et al., 2010). До 2015 року вважали, що всі відомі пріонні хвороби ссавців спричинюються пріонним білком (*PrP*); однак у 2015 році було висунуто гіпотезу, що численна системна атрофія (ЧСА) спричинена пріонною формою альфа-синуклеїну (Prusiner S.B. et al., 2015).

Пріони спричинюють нейродегенеративні хвороби, адже утворюють позаклітинні скупчення в центральній нервовій системі й формують амілоїдні фібрили, які гідрофобні, формують нерозчинні агрегати й руйнують нормальну структуру тканин. Як наслідок *PrP<sup>Sc</sup>* накопичується в плазматичних везикулах клітини. Руйнування характеризується утворенням “дірок” (порожнин) в тканині, й тканина набуває губчастої структури внаслідок формування вакуолей в нейронах (Kumar V. et al., 2014). Губчасті зміни (пористий вигляд) характеризуються численною вакуолізацією нейронів, яку виявляють із застосуванням світлооптичної мікроскопії за середнього збільшення й пофарбування гематоксиліном і еозином. Під час електронної мікроскопії в вакуолях виявляються фрагменти мембран. Двобічна симетрична вакуолізація нейронів – одна із трьох основних патогномонічних ознак пріонних інфекцій, які визначаються в гістопатологічному тесті (поряд з астроцитозом і церебральним амілоїдозом). Розрізняють два типи змін – численна мікропухирцева вакуолі-

зація нейропілей сірої речовини (типова для *BSE*) і утворення великих вакуолей подібних порожнинам в нейронному перикаріоні (здебільшого реєструється за природного перебігу скрепі). Саме цей механізм зумовлює феномен втрати нейронів. Зіставлення топографії патологічних змін, які виявляються за допомогою гістопатологічного тесту й імуногістоблоттингу, показує, що вакуолізації передують відкладання патологічного пріонного білку, а інтенсивність і локалізація дегенерації відповідають цим відкладанням, у зв'язку з чим саме останні відповідальні за нейропатологічні зміни за *TSE* (Makarov V.V. et al., 1999).

Отже, пріони утворюють аномальні агрегати білків (амілоїди), які накопичуються в інфікованій тканині й пов'язані з ушкодженням тканин і загибеллю клітин (Dobson C.M., 2001). Амілоїди також відповідальні за декілька інших нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера і хвороба Паркінсона (Golde T.E. et al., 2013; Irvine G.B. et al., 2008). Агрегати пріонів стабільні, й як уже зазначалось, структурна стабільність означає, що пріони стійкі до денатурації хімічними й фізичними агентами: вони не можуть бути знищені звичайною дезінфекцією або приготуванням їжі. Останнє утруднює утилізацію й локалізацію цих часток.

Під час досліджень уражених мозкових тканин також спостерігаються гістологічні зміни у вигляді астрогліозу (збільшення чисельності астроцитів внаслідок руйнування близько розміщених нейронів) й відсутності запальних реакцій (Belay E.D., 1999). Інкубаційний період пріонних захворювань, як правило, надзвичайно тривалий, після появи симптомів хвороба прогресує швидко, призводить до руйнування мозку й смерті (Gilch S. et al., 2001; Ma J., Wang F., 2014). В цьому разі проявлялись нейрогенеративні симптоми: конвульсії, деменції, атаксії (розлади координації рухів), поведінкові зміни тощо. Є повідомлення про те, що генномодифіковані тварини, в яких відсутній пріонний білок проявляють стійкість до пріонів й не хворіють на ці хвороби. Були проведені дослідження щодо мишей, в яких відсутні фізіологічні пріони. Останні виявились абсолютно стійкими до пріонів скрепі (Büeler H. et al., 1993).

Як уже зазначалось, пріонні хвороби можуть виникати внаслідок *прямого зараження, спадково* або *спонтанно* (спорадично) (Schulz-Schaeffer W.J et al., 2000; Groschup M.H., Kretzschmar H.A., 2000). Відомий дослідник пріонів Prusiner S.B. (2012) виділяє дві особливості, які притаманні таким нейродегенеративним хворобам, як хвороба Крейцфельда-Якоба, хвороба Альцгеймера і хвороба Паркінсона.



Перша говорить про те, що більше 80% випадків захворювань є спорадичними (тобто, випадкові, які виникають “самі собою”). Інша: попри той факт, що значна кількість мутантних білків, специфічних певній хворобі, експресується в процесі зародкового розвитку, форми спадковості цих нейродегенеративних захворювань проявляються пізніше. Останнє передбачає, що деякі процеси відбуваються під час старіння, яке “дає волю” хвороботворним білкам. Нині з’явилося багато різних пояснень причин виникнення вікових нейродегенеративних хвороб, наприклад, окиснювальна модифікація ДНК, ліпідів й/або білків; соматичні мутації; змінений уроджений імунітет; екзогенні токсини; невідповідність ДНК-РНК; порушення роботи шаперонів; відсутність одної з алелей гена. Альтернативним комплексним роз’ясненням є те, що різні групи білків можуть формувати пріони. Попри те, що незначна кількість пріонів може бути видалена шляхом білкової деградації, їх надлишкове накопичення з часом дозволяє пріонам самостійно розповсюджуватися в організмі, що приводить до порушення діяльності центральної нервової системи (Prusiner S.B., 2012).

В окремих ситуаціях, щоб виникло захворювання потрібна взаємодія цих чинників (Geissen M. et al., 2007). Як приклад, для виникнення скрепі потрібне як зараження пріоном, так і певний чутливий до збудника генотип тварини (Goldmann W. et al., 2008). У переважній кількості випадків пріонні хвороби виникають спонтанно з нез’ясованих причин (Wadsworth J.D.F. et al., 2010). Як уже зазначалось на частку спадкових пріонних захворювань припадає близько 15% (Brown P., 2008).

*Спонтанне виникнення.* Спорадичне (спонтанне) пріонне захворювання виникає у випадкової особини в популяції. Як приклад, можна навести класичний варіант хвороби Крейцфельда-Якоба. Існують дві провідні гіпотези відносно спонтанного виникнення пріонних захворювань. Згідно з першою спонтанні зміни відбуваються в нормальному білку мозку, тобто відбувається посттрансляційна модифікація (Brown P., 2008). Альтернативна гіпотеза говорить, що одна або декілька клітин в певний момент життя зазнають соматичної мутації (остання не передається нащадкам) й починають виробляти дефектний білок  $PrP^{Sc}$  (Wadsworth J.D.F. et al., 2010). Проте сам механізм спонтанного виникнення пріонних хвороб залишається невідомим (Brown P., 2008).

*Спадковість.* Як уже зазначалось,  $PrP^C$  кодується геном *PRNP*, що локалізувався на 20-й хромосомі, у мишей цей ген у 2-й хромосомі

(Oesch B. et al., 1985). *PRNP* значною мірою консервативний у ссавців і навіть практично в усіх хребетних. Він містить три екзони, але вся відкрита рамка зчитування знаходиться всередині екзона 3 (Liao Y.C. et al., 1986; Kretzschmar H.A. et al., 1986), причому всі пов'язані з захворюваннями мутації, виявлені нині, розміщені саме в екзоні 3 (Collinge J., 2001) Ген *PRNP* кодує нонапептидну ділянку, за якою йдуть чотири октаповтори; саме це вважається важливим через його здатність зв'язувати мідь. Під час усіх спадкових пріонних хвороб трапляється мутація цього гена. Довели існування більш як 30 хвороботворних мутацій *PRNP*. Останні призводять до одної заміни амінокислоти, додавання додаткових залишків або раннього усікання білка (Prusiner S.B., 1991; Brown P., 2008), звідси мутантні білки, які в цьому разі утворюються, більш схильні до укладки в ненормальну пріонну форму (Goldmann W. et al., 2008). Нині за хвороби Крейцфельда-Якоба описано більш як 50 мутацій (Mead S., 2006), переважно в кодонах 178, 200 і 210, за хвороби Герстмана-Штрауслера-Шейнкера мутації виникають в кодонах 102 і 117, фатального сімейного безсоння – в кодонах 129 і 178. Крім зазначених мутацій описаний ряд варіантів поліморфізму (Zerr I., Polyakova T.A., 2015).

Всі такі мутації успадковуються аутосомно-домінантно (Brown P., 2008). Це відкриття показало прогалини в загальній теорії пріонів, основні постулати якої зазначали, що патологічні пріони можуть переводити в аналогічну собі форму лише білки однакового амінокислотного складу. Мутації можуть мати місце по всьому гену. Низка інсерційних мутацій також була виявлена в восьмиповторній ділянці. Вважається, що значна частина цих мутацій сприяють перетворенню *PrP<sup>C</sup>* в *PrP<sup>Sc</sup>*. Також існуючий поліморфізм в гені *PRNP* також впливає на ризик розвитку пріонного захворювання. Найбільш важливим є кодон 129, оскільки він сприяє розвитку як спорадичної, ятрогенної, так і варіантної форми хвороби Крейцфельда-Якоба (*CJD*) (Palmer M.S. et al., 1991). Кодон 129 кодує метіонін (*M*) або валін (*V*), і гомозиготність *M / M* сприяє більш ранньому й більш швидкому початку захворювання, водночас гетерозиготність є захисною. Заміна глутамата на лізин в кодоні 219, ймовірно, також забезпечує захисний ефект проти пріонної хвороби (Hizume M. et al., 2009). Найбільш короткий час інкубації пріонного захворювання реєструється, коли *PrP<sup>Sc</sup>* і господар *PrP<sup>C</sup>* мають одну й ту ж саму послідовність, і коли інокуляція відбувається внутрішньоцеребрально, а не периферійно (Colby D.W., Prusiner S.B., 2011). Якщо ж *PrP<sup>Sc</sup>* має відмінності від *PrP<sup>C</sup>* господаря час інкубації може бути значно збільшений або клінічні ознаки

хвороби ніколи не з'являться. Останнє може запобігати передачі між видами й така складова забезпечується саме видовим бар'єром. Окремі мутації призводять до розтягування октапептидних повторів на *N*-кінці білка *PrP*. Інші мутації, що призводять до появи спадкового пріонного захворювання, можуть відбуватись в позиціях 102, 117 і 198 (синдром Герстмана-Штрауслера-Шейнкера), 178, 200, 210 і 232 (хвороба Крейцфельда-Якоба) і 178 (фатальне сімейне безсоння) (Hughes D., Halliday M., 2017).

Отже, нормальна (клітинна) форма пріона – *PrP<sup>C</sup>* (*the cellular isoform of prion protein*) виявляється в організмі всіх ссавців. Ген, який кодує синтез *PrP<sup>C</sup>-PRNP* – пріонний ген людини. Його високий рівень виявлений у нейронах. Фізіологічне значення *PrP<sup>C</sup>* безсумнівне, адже вони беруть участь у передачі нервового імпульсу, підтриманні циркадних ритмів (добові цикли активності та спокою), регуляції добових ритмів активності й спокою в клітинах і організмі в цілому. *PrP<sup>C</sup>* також потрібний для підтримання цілісності мієлінових оболонок нервових волокон протягом усього життя. Нормальний пріонний білок (*PrP<sup>C</sup>*) міститься в нервових клітинах людини і тварин. *PrP<sup>C</sup>* входить до складу зовнішніх клітинних мембран, пов'язаний з зовнішньою поверхнею клітин якорем гліколіпиду й бере участь в ендцитозі й катаболізмі клітин. Попри те, що найбільш високий рівень концентрації *PrP* виявлений в нейронах, його можуть синтезувати й інші клітини організму, такі як клітини легень, нирок, підшлункової залози, а також лейкоцити і тромбоцити. Розвиток інфекції відбувається внаслідок накопичення в нейронах видозміненого пріонного білка (*PrP<sup>Sc</sup>*), який порушує структуру *PrP<sup>C</sup>* і спричинює його перетворення в патологічний пріон. Патологічна ізоформа *PrP<sup>Sc</sup>* виявляється в організмі людей і тварин, які страждають від пріонного захворювання. Загальна характеристика й відмінності патологічних пріонів включають: – стійкість до протеолізу; гідрофобність; амілоїдогенність (Pokrovskii, V.I. et al., 2004). *PrP<sup>Sc</sup>* невірно укладена – замість альфа-спіралей вона має багато бета-конформацій (листоків), які злипаються одна з одною, утворюючи нерозчинні агрегати. Агрегати є згубними для клітини й примушують нормальний і нешкідливий *PrP<sup>C</sup>* складатися неправильно. Як результат в клітині зростає кількість неправильно укладених білків, які злипаються в смертоносні агреговані форми й вбивають її. *PrP<sup>Sc</sup>* є нейротоксичним, накопичення цього білка й його фрагментів в нейронах призводить до апоптозу й загибелі клітин (Bolton D.C. et al., 1982; McKinley M.P. et al., 1983; Hughes D., Halliday M., 2017).

Перші докази того, що губчасті енцефалопатії пов'язані з аномальними білками були отримані шляхом проведення морфологічних досліджень: в екстрактах різних тканин тварин, хворих на губчасті енцефалопатії, були виявлені скрепі-асоційовані фібрили (SAF), які були відсутні в нормальних тканинах, ці білки присутні в амілоїдних бляшках виявлених в головному мозку людей і тварин, які загинули від трансмісивних губчастих енцефалопатій (Zuzyev V.A. et al., 1999). Конверсія (перетворення) ізоформ пріонного білка  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  – незворотна й це доволі повільний процес, в основі якого лежать конформаційні зміни (табл. 3). Зміна просторової структури білка  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  відбувається під впливом різних факторів. Наслідком цих змін й є виникнення хвороби. Умовою для конформаційного переходу  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  є: – безпосередня фізична взаємодія  $PrP^{Sc}$  з ендегенним  $PrP^C$ ;  $PrP^{Sc}$  виконує роль матриці, яка відбивається на  $PrP^C$  і виникають конформаційні зміни. Таким чином, накопичення  $PrP^{Sc}$  відбувається внаслідок зміни нормальної форми  $PrP^C$  під впливом  $PrP^{Sc}$ . Процес накопичення інфекційного пріонного білка ( $PrP^{Sc}$ ) має лавиноподібний характер (Pokrovskii, V.I. et al., 2004, 2009; Okulova I.I., Zhdanova O.B., 2016). Згідно з гетеродимерною моделлю (Prusiner S.B., 1991), пріонний стан притаманний мономеру білка  $PrP$ , і фізична взаємодія  $PrP^{Sc}$  з  $PrP^C$  каталізує перетворення  $PrP^C \rightarrow PrP^{Sc}$ . В цьому разі спонтанний перехід  $PrP^C \rightarrow PrP^{Sc}$  малоймовірний із-за високого енергетичного бар'єра. Після здійснення переходу  $PrP^C \rightarrow PrP^{Sc}$  утворюються гомодимери  $PrP^{Sc}/PrP^{Sc}$ , які можуть дисоціювати, запускаючи нові раунди конформаційного перетворення, або агрегувати. Наявність агрегованої форми білка не обов'язкова для пріонного переходу й розглядається як вторинне явище, не пов'язане з конформаційною перебудовою. Експериментальні відомості підтверджують таку модель (Bellinger-Kawahara C.G. et al., 1988), проте її не можна вважати остаточно доведеною (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007). Найбільш важливим висновком з експериментів із “виключенням”  $PrP^C$  є абсолютна й повна вимога присутності  $PrP^C$  для будь-якої патології, спричиненої  $PrP^{Sc}$ . Вперше це було продемонстровано на мишах, позбавлених  $PrP^C$ , які виявились стійкими до пріонної інфекції (Bueler H. et al., 1993). Дослідники навіть трансплантували нервову тканину, яка характеризувалась надмірною експресією  $PrP^C$ , в мозок мишей, позбавлених  $PrP$  (Brandner S. et al., 1996). Після введення мишам пріонних трансплантатів в тканинах накопичувались високі рівні  $PrP^{Sc}$  і розвивались тяжкі гістопатоло-

гічні зміни, характерні для пріонної хвороби. Значні кількості  $PrP^{Sc}$ , отримані із трансплантату, мігрували в навколишні ділянки головного мозку господаря, але навіть через 16 місяців після інюкуляції жодних патологічних змін  $PrP$  в тканинах не спостерігали (Brandner S. et al., 1996). Таким чином, крім стійкості до інфекції скрепі, тканина мозку, позбавлена  $PrP^C$ , не ушкоджувалась екзогенним  $PrP^{Sc}$ , забезпечуючи додаткові докази того, що  $PrP^{Sc}$  не є безпосередньо токсичним *in vivo*. Цей факт також було додатково продемонстровано в експериментах, в яких кількість  $PrP^C$  зменшувалась під час пріонної інфекції (Mallucci G. et al., 2003; Hughes D., Halliday M., 2017).

Відмінності  $PrP^C$  і  $PrP^{Sc}$  наведені в таблиці 3 (Sakudo A. et al., 2011).

Таблиця 3 – Характеристики  $PrP^C$  і  $PrP^{Sc}$

Характеристика	$PrP^C$	$PrP^{Sc}$
Резистентність до дії протеаз	Низька	Висока
Розподіл в клітині	На поверхні	В середині
<i>GPI</i> якір	Присутній	Присутній
Вивільнення з клітинної поверхні за допомогою <i>PIPLC</i>	Так	Ні
Період напіврозпаду	3–6 годин	>24 h
Розчинність	Висока	Низька
Конформація	42% $\alpha$ -спіралі,	30% $\alpha$ -спіралі,
	3% $\beta$ -листки	43% $\beta$ -листки
Інфекційність	Ні	Так

Примітка:  $PrP^C$  – клітинна ізоформа пріона;  $PrP^{Sc}$  – патологічна ізоформа пріона; *GPI* – глікозилфосфатидилінозитол; *PIPLC* – фосфотидилінозитол-специфічна фосфоліпаза C.

Альтернативний механізм пріонного переходу розглядається також і в полімеризаційній моделі (Jarrett, J.T., Lansbury, P.T., Jr., 1993), згідно з положеннями якої пріонне перетворення невіддільне від агрегації, адже пріонну конформацію може стабільно підтриму-

вати лише олігомер або мультимер  $PrP$ . Стадія, яка лімітує швидкість переходу  $PrP^C \rightarrow PrP^{Sc}$ , є утворення “ядра” – олігомера  $PrP^{Sc}$ , який є інтермедіатом пріонного перетворення. Ця модель допускає існування двох можливих варіантів механізму пріонного переходу. Перший варіант пріонного перетворення передбачає, що  $PrP^C$  і  $PrP^{Sc}$  співіснує в термодинамічній рівновазі, яка зрушена в бік  $PrP^C$ , і  $PrP^{Sc}$  утворюється до приєднання мономера  $PrP$  до “ядра”. Стабілізація стану  $PrP^{Sc}$  відбувається під час приєднання мономера  $PrP^{Sc}$  до “ядра”  $PrP^{Sc}$ , в результаті чого мономер  $PrP^{Sc}$  опиняється в складі полімеру  $PrP^{Sc}$ . Якщо мономер  $PrP^{Sc}$  не приєднується до “ядра”  $PrP^{Sc}$ , відбувається зворотне перетворення  $PrP^{Sc} \rightarrow PrP^C$ . Інший варіант полімеризаційної моделі передбачає, що конформаційна перебудова відбувається не до, а в момент приєднання мономера  $PrP^C$  до олігомеру  $PrP^{Sc}$ . На користь полімеризаційної моделі говорять результати експериментів, які показали, що конвертуюча активність пов’язана саме з полімерами  $PrP^{Sc}$  (Caughey V. et al., 1995). Collinge J. (2010) схематично представляє також процес розмноження пріону: змінивши здорову конформацію на патологічну, білок набуває здатності злипатись зі своїм “перетворювачем”, патологічно складеним білком, в єдину олігомерну структуру. Утворюються фібрили, а коли вони досягають певної довжини, відбувається їх фрагментація. Частина фрагментів стає затравкою для конверсії інших здорових пріонів, решту знищують протеази організму. Таким чином, зрозуміло що не лише нуклеїнові кислоти можуть зберігати й доволі точно передавати спадкову інформацію, природою в процесі еволюції напрацьовані й інші способи. До того, необов’язкова й присутність білка.

Згодом була запропонована модель пріонного переходу, яка становить собою інший варіант полімеризаційної моделі з додатковими гіпотезами (Serio T.R. et al., 2000). Було показано існування інтермедіатів пріонного походження – олігомерних комплексів, менш структурованих, ніж пріонні фібрили та таких, що нагадують целли. Для того, щоб такий олігомерний комплекс міг каталізувати пріонний перехід, він повинен сформувати стабільне “ядро”, яке має пріонну конформацію. Конформаційному перетворенню може піддаватися як мономер, так і олігомерний комплекс в разі приєднання до стабільного “ядра”, яке є “матрицею” для утворення пріонної конформації (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006).

*Інфікування.* Нині більшість досліджень підтверджують, що протиприродним шляхом розповсюдження пріонів є аліментарний шлях зара-

ження (вживання зараженої їжі). Вважають, що пріони можуть залишатись в зовнішньому середовищі в рештках мертвих тварин, а також можуть бути присутніми в сечі, слині та інших рідинах і тканинах тіла. Зараження пріонами може відбуватись в разі використання нестерильних хірургічних інструментів. Пріони також можуть довго зберігатись внаслідок зв'язування з глиною та іншими ґрунтовими мінералами (Johnson C.J. et al., 2007). Доведено, що пріонна інфекція може виникати із пріонів, які містились у гної й гноївці від тварин (Tamgüney G. et al., 2008). Оскільки гній і гноївка можуть потрапляти у водойми й на пасовища, з'являється колосальна можливість розповсюдження патогенних пріонів. В 2011 році в спеціальній літературі пройшло повідомлення про можливість передачі пріонів скрепі білим мишам із часточками аерозолі (повітряно-крапельним шляхом)(Наубаєск J. et al., 2011). Були проведені дослідження, які показали наявність інфекційних пріонів в сечі експериментальних тварин із захворюваннями нирок і без них, передбачають, що пріони можуть бути присутніми у безсимптомних донорів сечі. Деякі продукти фертильності людини отримують із донорської сечі; й тут небезпека полягає в тому, що пріонний білок також було виявлено в препаратах менопаузального гонадотропіну людини (лМГ)(Dorsselaer A.V. et al., 2011).

*Стійкість пріонів.* Результати досліджень і спостережень показують, що пріони є доволі стійкими у зовнішньому середовищі (протягом багатьох років) і протеази не руйнують їх. Експериментальні відомості говорять за те, що не зв'язані з ґрунтом пріони з часом інактивуються, проте зв'язані з ґрунтом зберігаються на стабільних рівнях функціонування і, ймовірно навіть збільшують свою кількість (накопичуються)(Zabel M., Ortega A., 2017; Kuznetsova A. et al., 2018).

У 2015 році дослідники з Центру медичних наук Техаського університету в Хьюстоні виявили, що рослини можуть бути переносниками пріонів. Дослідники згодовували хом'якам траву, яка росла на ґрунті, де був закопаний олень, що загинув від хронічної виснажливої хвороби (CWD). Хом'яки захворіли на CWD. Дослідники зазначають, що пріони можуть зв'язуватись із рослинами, які потім переносять останніх у структуру листя й стебел, де їх можуть споживати травоядні, таким чином, завершуючи цикл. Отже, можливо, що в навколишньому середовищі поступово може накопичуватись значна кількість пріонів (Beecher C., 2015; Pritzkow S. et al., 2015).

Інактивація пріонів вимагає денатурації білка до стану, в якому молекула більше не може спричинювати аномальне укладання білків. В цілому пріони доволі стійкі до впливу протеаз, тепла, іонізаційного опромінення й формальдегіду (Qin K. et al., 2006), хоча їхні інфекційні властивості можуть бути знижені шляхом такої обробки. Ефективне знезараження пріонів залежить від гідролізу білка або відновлення, чи руйнування третинної структури білка. Для інактивації пріонів з успіхом застосовували гіпохлорит натрію, гідроксид натрію і детергенти (Race R.E., Raymond G.J., 2004). Було виявлено, що режим 134°C протягом 18 хвилин в автоклаві з парою під тиском доволі ефективно інактивував збудника (Brown P. et al., 2000; Collins S.J. et al., 2004). Частково денатурованим пріонам штучно може бути повернута здатність повернути собі інфекційні властивості (Weissmann C. et al., 2002).

ВООЗ рекомендує наступні (три) процедури стерилізації всіх термостійких хірургічних інструментів, щоб гарантувати, що вони не забруднені пріонами: 1) завантажують інструменти в 1N розчин гідроксиду натрію й поміщають в автоклав гравітаційного типу за 121°C на 30 хвилин; після цього промивають чистою водою; потім виконуються стандартні процедури стерилізації; 2) завантажують інструменти в 1N розчин гіпохлориту натрію (20 000 частин на мільйон вільного хлору) на 1 годину; переносять інструменти в воду; нагрівають в автоклаві гравітаційного типу за 121°C протягом 1 години; промивають чистою водою; потім виконуються стандартні процедури стерилізації; 3) завантажують інструменти в 1N розчин гідроксиду натрію або в 1N розчин гіпохлориту натрію (20 000 частин на мільйон вільного хлору) на 1 годину; промивають чистою водою; потім переносять у відкриту посудину, нагрівають в автоклаві гравітаційного типу за 121°C протягом 1 години або неповним завантаженням (134°C) протягом 1 години; промивають чистою водою; потім виконуються стандартні процедури стерилізації (Sutton J.M. et al., 2006).

Про ефективні методи інактивації пріонів є декілька повідомлень у спеціальній літературі (Sakudo A. et al., 2011). Різні методи ефективної інактивації наведені у таблиці 4.

Запропонована не так давно стерилізація газовою плазмою – перспективний метод, потенційно ефективний проти всіх мікроорганізмів, включно з пріонами. Такий підхід має серйозні переваги у порівнянні з звичайними методами (Sakudo A. et al., 2011).



Таблиця 4 – Режими і методи інактивації пріонів

Метод інактивації	Автор
<i>NaOCl</i> (20000 частин на мільйон, 20°C, 1 година)	Fichet G. et al, 2004
<i>NaOH</i> (1 N, 20°C, 1 година)	Fichet G. et al, 2004
Автоклав з водним завантаженням (134°C, 18 хвилин)	Fichet G. et al, 2004
Лужний мийний засіб (1.6%, 43°C, 15 хвилин)	Fichet G. et al, 2004
Фенольний дезінфектант (5%, 20°C, 30 min)	Fichet G. et al, 2004
3% додецил сульфат ( <i>SDS</i> ), 100°C, 10 хвилин	Tateishi J. et al., 1991
7 М гуанідин гідрохлорид (за кімнатної температури, 2 години)	Tateishi J. et al., 1991
3 М гуанідин тіоціанат (за кімнатної температури, 2 години)	Tateishi J. et al., 1991
3 М трихлороцтова кислота (за кімнатної температури, 2 години)	Tateishi J. et al., 1991
60% мурашина кислота (за кімнатної температури, 2 години)	Tateishi J. et al., 1991
50% фенол (за кімнатної температури, 2 години)	Tateishi J. et al., 1991
Ферментативний детергент (0,8%, 43°C, 5 хвилин) + стерилізація в газовій плазмі перекису водню (1,5 мг / л, 25 ° C, 3 години)	Fichet G. et al, 2004
Пара перекису водню (2 мг / л, 30°C, 3 цикли)	Fichet G. et al, 2004

Примітка: \* Автоклавування без замочування в воді недостатнє для інактивації пріонів (сухі умови утруднюють інактивацію) (Fichet G. et al, 2004; Vadrot C., Darbord J.C., 2006). \* Ферментний мийний засіб (0,8%, 43°C, 5 хв) + автоклав (121°C, 20 хв), лише ферментний мийний засіб (0,8%, 43°C, 5 хв), лише трихлороцтова кислота (0,25%, 55°C, 12 хв), лише пара перекису водню (1,5 мг/л, 25°C, 3 год) або ферментативний мийний засіб (0,8%, 43°C, 5 хв) + пара перекису водню (1,5 мг/л, 25°C, 3 год) є недостатніми для інактивації пріонів.

Brown P. et al. (2000) витримували інфекційний пріонний матеріал за температури 150–1000°C протягом 5–15 хвилин. Адже було відомо, що автоклавування пріонів за температури більше 135°C в умовах гострої пари їх інактивує. Однак автори все ж таки вирішили перевірити препарат на інфекційність. Матеріал вводили хом'якам шляхом внутрішньомозкових ін'єкцій. Результат здивував дослідників. Адже повністю карбонізований за 600°C зразок спричинив у хом'яків симптоми захворювання. Таким чином, після процедури, яка повинна була знищити всі біомолекули, нуклеїнові кислоти, білки, матеріал виявився заразним для

нових білків, зберігаючи в цьому разі особливості свого штаму. Під час обговорення отриманих результатів, Гайдущек з колегами згадали добре відоме явище біомінералізації викопних одноклітинних організмів. Можливе й інше пояснення: під час обвуглювання органічних вуглецевмісних матеріалів утворюються фулерени від  $C_{20}$  до  $C_{90}$  – новий клас каркасних сполук з незвичними фізико-хімічними властивостями. Ці сполуки здатні утворювати різні структури, у тому числі нанотрубки, які зовні нагадують амілоїд. Автори роблять висновок, що пріони, згораючи, зберігають свою просторову організацію й як і раніше залишаються матрицею, яка ідентифікує нативний білок *PrP<sup>C</sup>*. Ці відомості заставили вчених задуматись про те, чи є безпечним попіл (прах) після спалювання загиблих від пріонних захворювань тварин і людей. Таким чином, навіть форма патологічного пріону, повторена вуглецем або фулеренами, може бути інфекційним агентом. Спростувань цього поки не знайдено, а ось підтвердження непередбачених можливостей геометрії молекул прийшло з іншої області (Boroznyak R.V., 2012)

*Діагностика пріонних захворювань.* Діагностика ґрунтується на внутрішньомозковому зараженні мишенят або хом'яків, у яких повільно (до 150 днів) розвивається відповідна хвороба, якщо пацієнт або тварина були хворі (Novikov D.K. et al., 2010). Для виявлення збудників пріонних інфекцій (крім дорогої й тривалої біологічної проби) розроблено декілька методик.

Найбільш простий діагностичний засіб для виявлення патологічних пріонів – обробка протеїназою К. Метод ґрунтується на обробці гомогенату отриманого з мозку підозрюваних тварин протеїназою К (*PK*). Оброблений зразок наносять на мікротитрувальний планшет для абсорбції, потім визначають за допомогою антитіл до *PrP*. Якщо результат позитивний, повторно проводять імуноферментний аналіз (ІФА). Якщо знову буде отриманий позитивний результат, проводять вестерн-блотинг і імуногістохімію (ІГХ). Вестерн-блотинг використовує мембрану для поглинання білків, оброблених *PK*, розділених електрофорезом в поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію (*SDS*) (*PAGE*). Після абсорбції *PK*-резистентного *PrP* (*PrPres*) в мембранопов'язаних білках виявляється антитілами до *PrP*. Важливо зазначити, що вестерн-блотинг дає інформацію не лише про пріонні інфекції, але й про рухливість пептидів, на яку впливає генотип господаря й штами пріонів (Pan T. et al., 2001; Thuring S.M. et al., 2004). ІГХ ґрунтується на типових патологічних

характеристиках пріонних захворювань, включно зі втратою нейрональних клітин, вакуолізацією, астроцитозом і амілоїдними бляшками. За ІГХ-аналізу зрізів головного мозку накопичення амілоїдних бляшок *PrP*, втрата (або вакуолізація) нейрональних клітин і астроцитоз досліджуються за допомогою світлової мікроскопії (Pokrovskii, V.I. et al., 2004, 2009; Atarashi R. et al., 2011). Хоча вакуолізація також використовується як показник пріонної інфекції, різні комбінації пріонних штамів з видами господарів призводять до накопичення *PrP* без вакуолізації в зрізах мозку (Iwata N. et al., 2006; Orge L. et al., 2004). Часто проводять дослідження спинномозкової рідини з метою виявлення в ній білкових маркерів збудників пріонних захворювань за допомогою метода імуноблотингу і метода “*realtime quaking-induced conversion*” ПЛР (Atarashi R. et al., 2011; Orry C.D. et al., 2009).

Був розроблений метод циклічної ампліфікації з неправильним пакуванням білків (*PMCA*) (Saborio G.P. et al., 2001), який дозволяє *in vitro* ампліфікацію *PrPres* із незначної кількості *PrP<sup>Sc</sup>* як незначної затравки за допомогою послідовних циклів інкубації й обробки ультразвуком. Цікаво, що рівні *PrPres*, ампліфікованого цим методом, корелювали з титрами інфекційності пріона (Castilla J. et al., 2005). Крім того, за допомогою *PMCA* можна виявляти пріони в крові (Thorne L., Terry L.A., 2008). Також його можна використовувати для діагностики не лише невиліковно захворілих хом'яків, але і хом'яків в інкубаційному періоді пріонної інфекції (Saá P. et al., 2006). Цей метод має найвищу чутливість серед всіх відомих методів виявлення *PrPres*. Дослідження крові хворих людей ще в інкубаційному періоді захворювання може бути використане для підтвердження діагнозу (Saa P. et al., 2006). Нині вже є значна кількість повідомлень про його застосування для діагностики губчастих енцефалопатій в овець (Thorne L., Terry L.A., 2008), кіз (Soto C. et al., 2005), великої рогатої худоби (Soto C. et al., 2005), за таких хвороб як *sCJD* (Soto C. et al., 2005), *vCJD* (Jones M. et al., 2007), *CWD* (Kurt T.D. et al., 2007), а також скрепі хом'яків (Saborio G.P. et al., 2001) і мишей (Murayama Y. et al., 2007). *PMCA* згодом була модифікована, що призвело до розробки рекомбінантного *PrP-PMCA* (*rPrP-PMCA*) (Atarashi, R. et al., 2008) метод індукованої вібрацією конверсії (*QUIC*) (Atarashi R., 2009; Atarashi, R. et al., 2008).

Також з метою діагностики може бути застосований генетичний аналіз пріонного гена (Lukic A., Mead S., 2011).

## СЛАБКИЙ ЗВ'ЯЗОК МІЖ $PrP^{Sc}$ І НЕЙРОТОКСИЧНІСТЮ

Низка експериментів також продемонструвала складний взаємозв'язок між  $PrP^{Sc}$  і токсичністю. Виявилось, що  $GPI$ -якір необхідний для прояву токсичності, спричиненої  $PrP^{Sc}$ . Заражені пріонами миші, які експресують  $PrP$  без якоря, який вивільняється у позаклітинний простір замість того, щоб бути прив'язаним до плазматичної мембрани, вільно реплікує  $PrP^{Sc}$ , але кінець кінцем не хворіють (Deleault N.R. et al., 2003). Останнє знову вказує на те, що  $PrP^{Sc}$  не є безпосередньо токсичним для нейронів, а також на те, що для прояву токсичності потрібне або перетворення на мембрані, або наступна інтерналізація, опосередкована якорем  $GPI$ . У зв'язку з цим рівні відкладання  $PrP^{Sc}$  погано корелюють з прогресуванням захворювання, водночас спостерігаються субклінічні випадки пріонної інфекції й пріонної хвороби з низькими титрами пріонів, які спостерігають як у тварин, так і у людей (Deleault N.R. et al., 2005). В декількох дослідженнях спостерігали наявність нейродегенерації без амілоїдного  $PrP^{Sc}$  під час зараження пріонами  $BSE$  мишей або щурів (Deleault N.R. et al., 2007; Wang F. et al., 2010). У людей декілька успадкованих мутацій спричинюють нейродегенерацію без бляшок (Wilham J.M. et al., 2010; Orrú C.D. et al., 2011; Henderson D.M. et al., 2015). Було продемонстровано, що трансмембранна форма пріонного білка спричинює  $GSS$  за відсутності  $PrP^{Sc}$  (Espinosa J.C. et al., 2016). Були проведені дослідження з зараження мишей пріонами хом'яків, після чого було продемонстровано випадки значної реплікації  $PrP^{Sc}$  без прояву клінічних ознак (Orrú C.D. et al., 2015; Magnusson K. et al., 2014). Такі експерименти мають велике значення для розвитку діагностики та лікування пріонних захворювань. Можливо, що  $PrP^{Sc}$  є кращим маркером пріонної інфекції, ніж спричинена пріонами нейродегенерація, й знову демонструється відносна відсутність нейротоксичності  $PrP^{Sc}$ . Субклінічні інфекції також становлять небезпеку для здоров'я населення, адже  $PrP^{Sc}$  від осіб з відсутністю симптомів залишається заразним для інших, можливо, більш сприйнятливих людей (Bessen R.A., Marsh R.F., 1994). Наприклад, навіть в очищених фракціях пріонів скрепі, лише 1 частинка зі 105 виявляється заразною (Bolton D.C., Bendheim P.E., 1991). Було показано, що найбільш інфекційні частки мають не фібрилярне походження й складаються із 14–28 молекул  $PrP$ , й у цьому разі інфекційність значно знижена у олігомерів більшого або меншого розміру (Silveira J.R. et al., 2005).  $PrP^{Sc}$  є частково стійким до протеаз, проте також були

виявлені інфекційні *PK*-чутливі форми  $PrP^{Sc}$  (Tzaban S. et al., 2002; Pastrana M.A. et al., 2006; Sajnani G. et al., 2012). Ці *PK*-чутливі форми дещо відмінні структурно від *PK*-резистентних  $PrP^{Sc}$  й також є інфекційними (Sajnani G. et al., 2012). Навпаки, високі рівні *PK*-стійкого  $PrP^{Sc}$  не завжди корелюють з захворюваністю (Büeler H. et al., 1995) або інфекційністю (Biasini E. et al., 2008). Часткова стійкість до протеаз не завжди корелює з інфекційністю, і водночас неінфекційні стійкі до протеаз частки можуть реплікуватись (Riesner D. et al., 1996). Крім того, інфекційний  $PrP^{Sc}$  може складатись як із чутливих до протеаз, так і зі стійких фракцій. Результати всіх цих досліджень підкреслюють складність і неоднорідність токсичних агентів під час пріонних захворювань, ускладнюючи розуміння механізмів розвитку цих хвороб (Hughes D., Halliday M., 2017).

*Структура і токсичність  $PrP^{Sc}$* . Загадковою характеристикою пріонної хвороби є існування різних штамів / ізолятів  $PrP^{Sc}$ , які під час зараження ними модельних організмів можуть характеризуватись зовсім різним часом інкубації, клінічними ознаками й патологією. Біохімічно штами мали відмінні одна від одної імуногістопатологічні характеристики і чутливість до протеаз (Morales R. et al., 2007). Оскільки пріони складаються лише із білка й утворюються в результаті перетворення  $PrP^C$  господаря, феномен пріонного штаму не можна характеризувати як генетичну мінливість. Швидше за все штами пріонів є результатом наявних конформаційних змін, які підтримуються в процесі перетворення (Safar J. et al., 1998). Останнє передбачає, що структура  $PrP^{Sc}$  може допомогти пояснити нейротоксичність. На жаль, труднощі з очищенням і визначенням структури  $PrP^{Sc}$  ускладнюють дослідження. Токсичне перетворення призводить до того що наявність  $PrP^{Sc}$ , характеризується значною вторинною структурою  $\beta$ -листіків (Pak K.M. et al., 1993), протеазостійким ядром (Meeyer R.K. et al., 1986) й новими епітопами, які не є спільними з  $PrP^C$  (Korth C. et al., 1997). В такому разі накопичуються мономери, олігомери, протофібрили і нерозчинні фібрили  $PrP^{Sc}$ , створюючи гетерогенний набір структур. Вважається, що  $\beta$ -листок необхідний для агрегації  $PrP^{Sc}$  в амілоїдні фібрили (Eisenberg D., Jucker M., 2012). Було запропоновано декілька моделей амілоїду  $PrP^{Sc}$ , включно з короткими компактними фібрилами або паралельними  $\beta$ -листочками. Вважається, що фібрили визначають інфекційність і ефект міжвидового бар'єра (Hughes D., Halliday M., 2017), оскільки навантаження фібрил корелює з інфекційністю, але не з токсичністю (Sandberg M.K. et al., 2011).

Навіть якщо останні не є токсичними видами, їх присутність може каталізувати утворення більш токсичних видів (Singh J., Udgaonkar J.B., 2015), причому з'являється все більше підтверджень того, що винуватцями є олігомери  $PrP^{Sc}$ . Вони проявляють підвищену токсичність у порівнянні з фібрилами як *in vitro*, так і *in vivo* (Kazlauskaitė J. et al., 2005; Novitskaya V. et al., 2006; Simoneau S. et al., 2007). Ці результати узгоджуються з нинішніми відомостями про інші нейродегенеративні захворювання, які пов'язані з неправильним укладанням білків, за яких молекули олігомерів меншого розміру вважаються найбільш токсичними (Ugalde C.L. et al., 2016). Точна структура різних видів  $PrP^{Sc}$  залишається до кінця не з'ясованою, як і точний взаємозв'язок між структурою  $PrP^{Sc}$  і токсичністю.

Існують докази того, що невпорядкований *N*-кінцевий домен  $PrP^C$  опосередковує токсичність  $PrP^{Sc}$  (Resenberger U.K. et al., 2011; Hughes D., Halliday M., 2017).

Попри докази, які свідчать проти прямої токсичної ролі  $PrP^{Sc}$ , з неправильно згорнутим білком пов'язані шкідливі для організму процеси. Серед найбільш охарактеризованих – інгібування протеасоми й надактивація *UPR* (*unfolded protein response*), але також спостерігаються інші процеси, включно з синаптичними порушеннями, ініціацією апоптозу й індукцією окислювального стресу. Консенсус відносно молекулярних основ токсичності, пов'язаної з  $PrP^{Sc}$ , до кінця не зрозумілий, і гетерогенність  $PrP^{Sc}$  може означати, що окремі з цих процесів залежать від штаму / структури. Також можливо, що проста присутність агрегованого неправильно згорнутого білка, а не внутрішні властивості  $PrP^{Sc}$ , пояснюють деяку пов'язану з цим токсичність. Подібні шляхи ушкодження активуються під час інших нейродегенеративних захворювань, таких як хвороба Альцгеймера і Паркінсона, де ідентичність білків неправильно згортання відрізняється, проте залишається багато спільного (Ugalde C.L. et al., 2016; Verma M. et al., 2015).

## ПРІОНИ У БАКТЕРІЙ

До 2017 року пріони виявляли лише в еукаріот і вважали, що вони з'явилися вже після того, як бактерії й еукаріоти розійшлися за різними гілками еволюційного дерева. Однак, як з'ясувалось, бактеріальні пріони також існують і можуть регулювати експресію генів своїх мікробних господарів. Проте не можна ігнорувати факт, що вони кінцево можуть розповсюджувати свій вплив і на макроорганізми. Протягом тривалого часу нічого не було відомо про бактеріаль-

ні пріони, хоча й знали, що дріжджові пріони чудово розмножуються в клітинах бактерій. Пріоноподібні властивості виявили іспанські дослідники у одного з білків, який ініціював реплікацію бактеріальних плазмід (Giraldo R. et al., 2011). Так, специфічний домен білка *RepA* (особливо у разі точкової мутації) змінював конформацію на пріоноподібну під час контакту з плазмідною ДНК в місці початку реплікації. Цей домен спричинював у бактерії *Escherichia coli* амілоїдну протеїнопатію, яка передавалась від батьківської клітини дочірнім (вертикально), й уже за відсутності будь-якої ДНК ініціював агрегацію молекул гомологічного білка *in vitro*. Вчені, які це спостерігали припустили, що такі конформаційні перебудови лежать в основі регуляції копіювання деяких плазмід (Prusiner S.B., 1991). Автори дослідження відносили до пріонів амілоїди, здатні надавати відповідних властивостей іншим білкам й передаватися як вертикально, так і горизонтально (від клітини до клітини) – тобто проявляти інфекційність (Giraldo R. et al., 2011). Можливо, із-за того що *RepA* не був інфекційним білком, дослідники вирішили називати його й подібні йому молекули пріоноїдами. Втім цей термін не прижився, й біологи продовжують називати всі пріоноподібні білки пріонами.

Yuan A.H. and Hochschild A. (2017) із Гарвардської медичної школи (США) вивчили майже 60 000 бактеріальних геномів з метою знайти детермінанти білків, які містять потенційний пріон-формуєчий домен (*cPrD*). Їх праця не була марною: такий домен розміром 68 амінокислотних залишків виявили всередині *N*-кінцевого домена фактора термінації транскрипції *Clostridium botulinum* (*Cb-Rho*). *Rho*, або  $\rho$ -фактор виявився доволі консервативною гексамерною хеліказою. Приєднуючись до транскрипту, що утворюється, приблизно за 100 нуклеотидів до сайту термінації, вона рухається по РНК і, досягнувши РНК-полімерази, яка пригальмовує на сайті термінації, послаблює зв'язок між ДНК і РНК. Останнє призводить до припинення роботи полімерази.

Дослідники протестували *Cb-Rho* на амілоїдогенність. Експеримент проводили на модельній бактерії *E. coli*. Адже остання зручна у роботі тим, що вона може секретувати амілоїди у зовнішнє середовище. Внаслідок цього  $\rho$ -фактори клостридій з 68-нуклеотидним *cPrD*, й з повним 248-нуклеотидним *N*-прикінцевим доменом (*NTD*) виявились здатними до формування амілоїдів. А якщо *NTD* “рідного”  $\rho$ -фактора *E. coli* замінювали на *NTD* від *Cb-Rho*, то клостридіальний *cPrD* надавав здатності такому химерному *Rho* набувати в клітинах двох різних форм: розчинну, яка ефективно зупиняла тран-

скрипцію, і агреговану, пріонну, яка була здатна до самовідтворення більш ніж у 120 бактеріальних поколіннях. Білок в пріонній конфор-мації спричиняв значні зміни транскриптома бактерій, оскільки РНК-полімераза під час транскрипції не зупинялась на *Rho*-залежних термінаторах. Але якщо прокаріотичний *cPrD* кластридій є подібним з еукаріотичним *PrD* дріжджів, чи в змозі він його замі-нити. Дослідники вирішили перевірити цю гіпотезу. У дріжджів *PrD* входить до складу *N*-кінцевого домена пріон-формуєчого білка *Sup35* провідного фактора термінації трансляції. Створивши химер-ний *cPrD* з *Cb-Rho* і *Sup35C* (*C*-кінцевого домена *Sup35*) вчені внес-ли генетичну конструкцію в клітини дріжджів, після цього вони спо-стерігали звичайний, непріонний, дріжджовий фенотип, який міг переходити в стійкий пріонний. Так, вдалося встановити, що бакте-ріальний пріон-формуєчий домен безперешкодно функціонує в клі-тинах еукаріот (Yuan A.H., Hochschild A., 2017).

Відкриття бактеріального пріону, здатного “працювати” в еука-ріотичних клітинах, підтверджує існування білкової спадковості у бактерій і дозволяє припустити, що пріони з’явилися ще до еволю-ційного відокремлення еукаріот і бактерій. Звичайно, що *RepA*-пріоноід було виявлено набагато раніше, але кодується він не бакте-ріальною хромосоною, а плазмідною, й, імовірно, тому беззастережно бактеріальним пріоном біологи вважали саме *Cb-Rho*. Домен *cPrD* виявили в складі  $\rho$ -факторів шести бактеріальних типів, які включа-ли провідних представників кишкової мікробіоти людини. Останнє означає, що пріони бактерій можуть якимось чином впливати і на життєдіяльність клітин людини. Позаяк *Rho*-фактори, “пріонізую-чись”, змінюють транскриптом, вони можуть бути джерелами епіге-нетичного різноманіття бактерій й адаптувати їх до змін у зовніш-ньому середовищі. Наприклад, допомагати патогенам уникати імун-ного нагляду під час інфекції або сприяти набуттю персистувальни-ми клітинами толерантності до антибіотиків.

Отже, збудники пріонних хвороб – це мутантна (інфекційна) форма звичайного, такого що активно синтезується в нервовій тка-нині, пріонного білку ссавців – *PrP<sup>C</sup>*. Перехід *PrP<sup>C</sup>* в патологічну форму (*PrP<sup>Sc</sup>*) – схильну до  $\beta$ -агрегації, стійку до протеаз і фізичних факторів, “заразну” – виникає або спонтанно, або в разі контакту з *PrP<sup>Sc</sup>*. Однак контактувати між собою повинні білки з доволі подіб-ною амінокислотною послідовністю, тому випадки міжвидового зараження нечасті (Zuev V.A. et al., 2020). Що є прокативним фак-тором перетворення нормальних білків у патогенні (адже перші



виконують певні базові й важливі функції, можливо, пов'язані з клітинними циклами й уродженням імунітетом) в патогенні – до цього часу невідомо (крім мутацій в їх генах) (Soskia S.J. et al., 2010). Ймовірно, “інфекційність” пріонних та інших амілоїдних білків проявляється лише у “співпраці” з іншими молекулами: модуляторами конверсії нормальних білків в патогенні можуть бути специфічні нуклеїнові кислоти і глікозаміноглікани (Silva J.L. et al., 2011). Таку сподіваність у майбутньому планується використовувати в терапевтичних цілях. Загалом, білки, схильні до  $\beta$ -агрегації, є не лише у ссавців. Відносно нещодавно амілоїдні агрегати виявили у дріжджів, однак особливих цитотоксичних властивостей вони не проявляли.

Пріоноподібні властивості були виявлені у білка-ініціатора реплікації бактеріальних плазмід. Домен білка *RepA*, зазнає відповідної конформаційної перебудови під час контакту з двохланцюговою ДНК в *origin* реплікації (пріоноїд). Цей домен (який містить єдину амінокислотну заміну) здатний спричинювати, таку що передається вертикально амілоїдну протеїнопатію у *E. coli* і навіть без контакту з ДНК може ініціювати агрегацію молекул гомологічного білка в розчині *in vitro* (Gilardo R et al., 2011). Такі конформаційні перебудови лежать в основі регуляції копіювання плазмід (Torreira E. et al., 2015), й останнє є зовсім старовинним і базовим процесом. Розроблена Gilardo R. et al. (2011) системна модель найбільш проста й безпечна для вивчення первинних процесів, які запускають пріонні й інші нейродегенеративні хвороби: – вимикається значна частина еукаріотичних “перешкод”; – легко експериментувати з будь-якими “вимикачами” конформацій тощо.

Всі властивості живого повинні бути записані в послідовності нуклеотидів, причому інформація передається від ДНК через РНК до білка і в жодному разі не навпаки, від білка до нуклеїнових кислот. Жоден білок не може самовідтворюватися, оскільки реплікація його неможлива. Жоден білок не може заставити біологічну систему зберегти свою послідовність, якщо вона не закодована в геномі. Все, на що здатна молекула білка, то це виконувати свою функцію в організмі й “гинути”, а збереження інформації про неї це функція ДНК і РНК. Відповідно, кожен самовідтворюваний збудник хвороби обов'язково повинен містити нуклеїнову кислоту. Як уже зазначалось у попередніх розділах, Стенлі Прузинер вивчаючи скрепі, губчасту енцефалопатію ВРХ, хворобу Крейцфельда-Якоба довів інфекційні властивості в білків й їх здатність зберігати інформацію про природу захворювання.

## ПРІОНИ У ДРІЖДЖІВ

На відміну від пріонів ссавців пріони дріжджів не призводять до загибелі клітин, навпаки вони можуть підвищувати їх здатність до виживання в неблагоприємних умовах (True H.L., Lindquist S.L., 2000). Виявлення пріонів [*Het-s*] гриба *Podospora anserina* призвело до розуміння того, що пріони можуть виконувати фізіологічні функції (Coustou V. et al., 1997). Про можливе біологічне значення пріонів також свідчить їх розповсюдженість у природі. Згодом було відкрито пріон [*PIN+*] *S. cerevisiae*, що забезпечує виникнення [*PSI+*] *de novo* (Derkatch I.L. et al., 1997, 2001), також з'явилися відомості про існування пріоноподібних детермінант [*ISP+*] (Volkov K.V. et al., 2002), [*GAR+*] (Brown J.C., Lindquist S.L., 2005) *S. cerevisiae* і детермінанти [*cif*] *Schizosaccha romyces pombe* (Beauregard P.B. et al., 2005; Collin P. et al., 2004; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Визначення пріоно-подібного домену відбулось деякою мірою внаслідок вивчення пріонів грибів. В дріжджах пріоногенні білки мають пріонний домен, який переноситься й необхідний для само-темплінгу й агрегації білків. Останнє було показано шляхом приєднання пріонного домену до репортерного білка, який потім агрегується, як відомий пріон. Так само, якщо видалити пріонний домен із пріонного білка інгібується пріоногенез. Такий модульний погляд на поведінку пріонів призвів до гіпотези про те, що подібні пріонні домени присутні в білках тварин на додаток до *PrP* (King O.D. et al., 2012). Ці грибові пріонні домени мають декілька характерних особливостей послідовності. Як правило, вони збагачені залишками аспарагіну, глутаміну, тирозину й гліцину, причому схильність до аспарагіну особливо сприяє агрегативним властивостям пріонів. Історично вважалось, що пріоногенез не залежить від послідовності й залежить від відносного утримання залишків. Однак було показано, що останнє не зовсім вірно, оскільки відстань між пролінами й зарядженими залишками, має вирішальне значення для утворення амілоїду (Alberti S. et al., 2009).

Біоінформативні скринінги показали, що більше як 250 білків людини містять пріоноподібні домени (*PrLD*). Вважають, що ці домени володіють такими ж трансмісивними амілоїдогенними властивостями, як *PrP* і відомі білки грибів. Як і в дріжджах, білки, які беруть участь в експресії генів і зв'язуванні РНК, ймовірно збагачені *PrLD* порівняно з іншими класами білків. Зокрема, 29 із відомих 210 білків з функціями розпізнавання РНК також мають цей передбачу-

ваний пріонний домен. Між іншим, деякі з цих РНК-зв'язуючих білків були незалежно ідентифіковані як патогенні в випадках *ALS*, *FTLD-U*, хвороби Альцгеймера і хвороби Хантінгтона (Eisenberg D., Jucker M., 2012).

Втім пріони дріжджів в природі не передаються горизонтально, між окремими клітинами. Вони передаються лише під час схрещування й набувають цих ознак нестандартними, неменделєвськими шляхами. Пріонна інфекція погано передається між різними видами організмів, навіть близько родинними. Пріони дріжджів зовсім безпечні для людини. Адже підґрунтям інфекційності пріонів є автокаталітичний процес: інфекційна форма пріонного білка змінює нормальну форму, перетворюючи її у собі подібну. Більшість пріонів належить до амілоїдного типу. Однак білкова інфекція або прояв спадковості може використовувати й інші механізми. Наприклад, дріжджовий пріон  $\beta$  є протеазою *Prb1*, яка активує інші молекули *Prb1*, видаляючи в них блокувальний амінокінцевий пептид. Амілоїд – це ниткоподібний білковий агрегат, який здатен каталізувати приєднання до себе мономерних молекул того ж білка, що пов'язано з їхньою глибокою структурною перебудовою. Його також можна розглядати як одномірний кристал, на відміну від звичних для всіх тривимірних кристалів. В багатьох випадках у дріжджових пріонів, в амілоїдному перетворенні бере участь лише незначна частина білкової молекули, яка утворює стрижень амілоїду. Решта частини молекули “висить” на цьому стрижні в незміненому вигляді (амілоїдогенні білки в нормі є розчнними, тобто мономерними). Перетворення останніх в амілоїд є причиною більш як 30 хвороб людини, наприклад, хвороби Альцгеймера і Паркінсона. Ці хвороби здебільшого з'являються в зрілому віці. Вони неінфекційні, крім випадків пов'язаних з патогенними *PrP*. Всі ці хвороби поки що не піддаються лікуванню. Четвертинна структура амілоїду одночасно є вторинною, оскільки амілоїд становить собою єдиний мультимолекулярний  $\beta$ -листок. Щоб уявити цю структуру, візьмемо багато білкових молекул, витягнемо кожну в лінію й складемо їх паралельно на площині, так, щоб амінокислоти з ідентичними номерами були поряд. Це, так званий,  $\beta$ -листок, в якому сусідні поліпептидні ланцюги скріплені значною кількістю водневих зв'язків. Насамкінець, складемо цей лист гармошкою, щоб складки йшли перпендикулярно пептидам, паралельно з віссю амілоїду. Завдяки значній кількості водневих зв'язків амілоїди доволі міцні, за питомою міцністю на розрив прирівнюючись до сталі. Амілоїди також стійкі до протеаз, що спричи-

нює їх накопичення в тканинах і відкладання у вигляді бляшок. Провідну роль у розмноженні пріонів дріжджів відіграє молекулярна машина *Hsp104*, яка подрібнює пріонні нитки на більш короткі фрагменти, висмикуючи з ниток окремі білкові молекули. Ці дрібні фрагменти ростуть так само добре, як і великі, й мають навіть більшу інфекційність. Ймовірно, головна відмінність пріонів і неінфекційних амілоїдів пояснюється підвищеною схильністю пріонів до фрагментації. Слід зазначити, що номінально дія *Hsp104* направлена на розборку й знищення будь-яких агрегатів, однак без нього дріжджові пріони не підтримуються й швидко зникають з культури дріжджів яка росте. Гомологічний *Hsp104* у тварин і людини відсутній, але аналогічна активність, ймовірно, існує. У дріжджів пріонний стан фактора термінації трансляції *eRF3* (також відомий як детермінант [*PSI+*]) дозволяє супресувати нонсенс-мутації. Це мутації, які створюють стоп-кодони всередині білок-кодуєчих ділянок, що означає передчасне завершення синтезу відповідного білка. В пріонному стані білок *eRF3* малоактивний, що дозволяє перестрибувати стоп-кодон і синтезувати білок повністю. Пріон *Het-s* нитчастого гриба *Podospora anserina* контролює репродуктивну “мораль”, запускаючи самознищення у деяких гібридів від схрещування. Дилема в тому, що схрещування дозволяє отримати нові варіанти генів, що важливо для еволюції, але несе небезпеку отримання вірусів, здатних вбити всю популяцію. Пріон розподіляє популяцію гриба на дві частини, одна з яких є відкритою для обміну генами, а інша напівзакрита для збереження виду в разі розповсюдження вірусів. Деякі амілоїди тварин мають корисні і важливі функції. У дрозофіли перехід до амілоїдного стану білка *Orb2* є провідною подією в механізмі довготривалої пам’яті. Не виключено, що пам’ять людини також ґрунтується на амілоїдному перетворенні (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007; Kushnir V., 2012).

*Шаперони й їх роль у підтриманні пріонів у дріжджів.* Пріони дріжджів характеризуються здатністю стабільно підтримуватися в клітинах що діляться. Відомо, що наявності детермінанти [*PSI+*] відповідає агрегований стан білка *Sup35* (Patino M.M. et al., 1996; Paushkin S.V. et al., 1996). У зв’язку з цим виникають питання, яким чином успадковуються такі агрегати й чи є вони одиницями спадковості [*PSI+*]. Очевидно, що для того, щоб пріон стабільно підтримувався, кожному мітотичному діленню повинно відповідати подвоєння одиниць його наслідування. Було показано, що [*PSI+*] може існувати лише в разі наявності в клітині дріжджів шаперона родини

*Hsp100* – *Hsp104* (Chernoff Y.O. et al., 1995). Характерно, що не лише відсутність білка *Hsp104*, але й його надмірна експродукція призводять до втрати [*PSI* +]. Неможливість існування в разі відсутності *Hsp104* є загальною характеристикою всіх вивчених пріонів дріжджів, що свідчить на користь єдиного механізму їх спадкоємства. *Hsp104* дріжджів і його бактеріальний ортолог – *ClpB* є провідними білками теплового шоку, які забезпечують можливість виживання організмів в умовах стресу, таких як підвищена температура і висока концентрація етанолу в середовищі. *Hsp104/ClpB* становить собою гексамер, який не попереджає денатурацію клітинних білків, спричинену підвищеною температурою, а руйнує великі агрегати вже денатурованих білків і цим сприяє їх повторному згортанню й відновленню функції (Parsell D.A. et al., 1994). *In vitro* було показано, що *Hsp104* в комплексі з білками *Hsp40* і *Hsp70* повністю відновлює активність денатурованої люциферази (Glover J.R., Lindquist, S., 1998). Існує дві моделі, які розглядають механізми участі *Hsp104* в підтримці [*PSI* +]. Одна з них говорить, що *Hsp104* полегшує процес пріонного переходу, взаємодіючи з молекулами *Sup35* і сприяючи набуттю мономером якоїсь проміжної конформації (Lindquist S., 1997). Слід зазначити, що *in vitro* перехід *Sup35* в пріонну форму не вимагає наявності *Hsp104* (Glover J.R. et al., 1997). Однак було показано, що в низькій концентрації *Hsp104* (співвідношення гексамерів *Hsp104* до мономерів *Sup35* становить – 1 : 250) елімінував лаг-фазу утворення фібрил і прискорював полімеризацію *Sup35NM in vitro* (Shorter J., Lindquist S., 2004). Інша модель, на користь якої говорить більшість експериментальних даних, вказує, що *Hsp104* необхідний не для пріонного переходу, а для розборки великих агрегатів *Sup35* на більш дрібні частки, в результаті якої забезпечується стабільність спадкоємства пріона (Kushnirov V.V., Ter-Avanesyan M.D., 1998; Paushkin S.V. et al., 1996). Механізм участі *Hsp104* в підтриманні пріонів дріжджів вивчався паралельно с механізмом знищення пріонів за допомогою гуанідин гідрохлориду (ГХГ, *GuHCl*). “Вигнання” пріонів [*PSI* +] за допомогою ГХГ відбувається лише в культурі дріжджів, які діляться (Eaglestone S.S. et al., 2000). Появі клітин [*psi* –] передує лаг-фаза, яка приблизно дорівнює чотирьом-п’яти генераціям (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

На підставі вивчення кінетики “вигнання” [*PSI* +] виникла гіпотеза, що ГХГ блокує реплікацію “зерен” [*PSI* +], тобто одиниць спадковості, які називають пропагонами. Якщо пріонні “зерна” не реплікуються, то ділення культури клітин супроводжується поступовим

зменшенням їх кількості в кожній клітині. Відслідковуючи процес вигнання [PSI+] за присутності ГХГ протягом 20–30 годин, Eaglestone S.S. et al. (2000) визначили середню кількість пропегонів, які були присутні в клітині до впливу цієї речовини. Вона становила  $62 \pm 10$ . Cox B. et al. (2003) згодом з'ясували, що кількість пропегонів може варіювати від 30 до 1000 залежно від штаму (варіанту) [PSI+]. Було показано, що вирощування клітин у середовищі з ГХГ не спричинює руйнування вже чинних пріонних агрегатів і не призводить до протеклізу білка *Sup35*, який утворює ці агрегати. ГХГ не блокує й подальшу полімеризацію *Sup35*, яка каталізується наявними в клітині “зернами”. Зменшується поступово лише сама кількість пропегонів у клітинах (Ness F. et al., 2002). Також було з'ясовано, що вирощування клітин у середовищі з ГХГ призводить до інактивації *Hsp104* (Ferreira P.C. et al., 2001), на підставі цього було зроблено висновок, що вигнання [PSI+] із застосуванням цього агента є результатом інактивації цього шаперона. Підтвердженням цього факту було отримання мутацій в гені *HSP104*, які забезпечують стійкість [PSI+] до дії ГХГ (Jung G. et al., 2002) й демонстрація інгібувальної дії ГХГ на АТФ-азну активність *Hsp104 in vitro* (Griminger V. et al., 2004).

*In vitro* також було показано, що *Hsp104* роз'єднує фібрили *Sup35* на більш дрібні (за співвідношення гексамерів *Hsp104* до мономерів *Sup35* яке дорівнює приблизно 1 : 50)(Shorter J., Lindquist S., 2004). Зменшення рівня *Hsp104* в клітині або зниження його активності призводить до зменшення кількості агрегатів *Sup35*, а також до збільшення їх розміру (Wegrzyn R.D. et al., 2001), а надмірна експресія *Hsp104* зменшує розмір пріонних агрегатів (Kushnirov V.V. et al., 2000). Згодом були отримані більш прямі свідчення здатності *Hsp104* фрагментувати агрегати *Sup35* (Kryndushkin D.S. et al., 2003). Виявилось, що агрегати *Sup35* складаються з SDS (*sodium dodecyl sulfate*) – стійких полімерів, кожний з яких, своєю чергою, містить приблизно від десяти до п'ятдесяти молекул *Sup35*. Під час росту клітин у присутності ГХГ середній розмір полімерів *Sup35* збільшувався в два рази за один клітинний поділ, що пояснювали лише порушенням їх фрагментації. Після перенесення клітин в середовище, яке не містить ГХГ, розмір полімерів поступово повертався до первісних. Поступове зменшення експресії *Hsp104* також сприяло збільшенню розмірів полімерів. Отримані відомості свідчать на користь моделі, згідно з якою *Hsp104* фрагментує пріонні полімери, які забезпечують стабільність їх успадкування (Kushnirov V.V., Ter-Avanesyan M.D., 1998; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Таким чином, підтримання пріона в клітині можна уявити як баланс двох процесів: перехід мономерів в полімерну форму (полімеризація) й подрібнення полімерів на більш дрібні (фрагментація). Ефективна фрагментація полімерів забезпечує необхідну кількість вільних полімерних кінців, за участю яких відбувається полімеризація. Було встановлено, що в процесі підтримання [PSI+] беруть участь також шаперони родин *Hsp70* і *Hsp40*. Білки теплового шоку родини *Hsp70* є основними шаперонами, які забезпечують згортання білків в клітині дріжджів. Окрім власне згортання білків, *Hsp70* виконують різнобічні функції, такі як стабілізація білків за теплового шоку, транслокація поліпептидних ланцюгів через мембрани (Becker J. et al. 1996), збирання й дисоціація макромолекулярних комплексів (Oka M. et al., 1998). Партнерами *Hsp70* є шаперони родини *Hsp40* (Cyr D.M. et al., 1992). Родина шаперонів *Hsp70* *S. cerevisiae* включає *SSA* і *SSB* підродини. Надлишкова експресія білка *Ssa1* перешкоджає вигнанню [PSI+] в разі надлишкової експресії *Hsp104* (Newnam G.P. et al., 1999), і приблизно в десять разів посилює індукцію [PSI+] *de novo*. Збільшення кількості *Ssa1* в клітині призводить до збільшення розмірів пріонних полімерів і одночасному зростанню рівня мономерного *Sup35*. Інші білки підродини *SSA*, а саме *Ssa2*, *Ssa3*, *Ssa4* здійснюють на [PSI+] таку саму дію, як і *Ssa1* (Allen K.D. et al., 2005). Фізичну взаємодію білків *Ssa* і *Ssb* з *Sup35* було показано *in vitro* і *in vivo*. Таким чином, родина шаперонів *SSA*, ймовірно, виконує функцію “помічника” [PSI+]. Можливим механізмом такої дії є проміжна конформація молекул *Sup35*. Стабілізація частково згорнутого стану, проміжного між нативним і пріонним, збільшує ймовірність пріонного переходу під час взаємодії з пріонним “ядром”. На противагу підродині *SSA* підродина *SSB* шаперонів *Hsp70* проявляє властивості антагоніста [PSI+] (Chernoff Y.O. et al., 1999; Kushnirov V.V. et al., 2000). Надпродукція білка *Ssb1* посилює вигнання [PSI+], яке спостерігають за підвищеного рівня *Hsp104*. Делеція життєво неважливих генів *SSB1* і *SSB2* послаблює ефект вигнання [PSI+], який спричиняється надпродукцією *Hsp104* (Chernoff Y.O. et al., 1999). Частота виникнення [PSI+] зростає у штамів з делеціями *Ssb1* і *Ssb2* генів. Відомості про те, що *Ssb1* впливає на протеосомну деградацію білків (Ohba M., 1997), дозволяють передбачати, що *Ssb1*, взаємодіє з молекулами *Sup35*, стабілізує їх нативний стан, а якщо це є неможливим, то сприяє їх деградації (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Підтримання [*PIN+*] залежить не лише від шаперона *Hsp104* (Sondheimer N., Lindquist S., 2000), але від шаперона *Sis1*, який належить до родини *Hsp40* (Sondheimer N. et al., 2001; Lopez N. et al., 2003). Однак на відміну від [*PSI+*], надпродукція шаперона *Hsp104* не призводить до втрати [*PIN+*] (Derkatch I.L. et al., 1997). Водночас, виявлено, що надпродукція шаперона *Ydj* родини *Hsp40* призводить до втрати деяких варіантів [*PIN+*] (Bradley M.E. et al., 2002). Необхідною умовою для підтримання в клітині [*URE3*] є функціонування шаперона *Hsp104* і шаперона *Ssa2* із родини *Hsp70* (Schwimmer C., Masison D.C., 2002). Делеція гена *HSP104* призводить до втрати [*URE3*], а надпродукція *Hsp104* не дестабілізує його (Moriyama H. et al., 2000). “Вигнання” [*URE3*] спричинює надпродукцію іншого представника родини *Hsp70* – білка *Ssa1* (Schwimmer C., Masison D.C., 2002), а також шаперона *Ydj1* із родини *Hsp40* (Moriyama H. et al., 2000).

*Міжвидові бар'єри передачі пріонних властивостей Sup35, мутації в цьому гені і механізми вигнання [PSI+].* Пріонний домен *Sup35* можна розділити на дві ділянки, які відрізняються за структурою і функціями. Район, який позначають *NQ* (з 1 до 40 а.з.) збагачений аспарагіновими й глутаміновими залишками. Інший район, *NR* (з 41 до 97 а.з.), містить п'ять повних і одну неповну копію амінокислотних повторів з консенсусною послідовністю *PQGGYQQYN*. Мутації в гені *SUP35*, які призводять до втрати [*PSI+*] (мутації *PNM*) або ті що інтерферують з його фенотипним проявом, здебільшого призводять до заміни амінокислот в ділянці з 8 до 26 а.з. *PrD* (DePace A.H. et al., 1998). Згодом з'ясувалось, що ця ділянка білка є детермінантою видової специфічності пріона (Santoso A. et al., 2000).

Подібно бар'єрам, які обмежують передачу пріона між віддаленими видами ссавців, існують бар'єри передачі [*PSI+*] між віддаленими видами дріжджів, наприклад, такими як *S. cerevisiae* і *Candida albicans*. Передача [*PSI+*] між декількома віддаленими видами дріжджів була змодельована за допомогою химерних білків, у яких пріонний домен білка *Sup35 S. cerevisiae* було замінено на амінокінцеві райони *Sup35 C. albicans*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia methanolica*. Химерні білки, які містять пріонні домени *C. albicans*, *K. lactis*, *P. methanolica*, здатні агрегувати *in vivo* й утворювати амілоїдні фібрили *in vitro*, однак не можуть вбудовуватися в пріонні агрегати *Sup35 S. cerevisiae*. Надпродукція *Sup35 S. cerevisiae* не призводила до агрегації й індукції пріонного стану химерних білків, і, навпаки, надпродукція химерних білків не призводила до індукції пріонного стану



*Sup35 S. cerevisiae*. Таким чином, передача пріонного стану між білками *Sup35* із дріжджів різних видів не відбувалась. Водночас, заміна ділянки з 8 до 26 а.з. в химерному білку, який несе пріонний домен *Sup35 C. albicans* і район *MC* білка *Sup35 S. cerevisiae*, на аналогічну ділянку *Sup35 S. cerevisiae* робила його сумісним з пріонним станом білка *S. cerevisiae* (Santoso A. et al., 2000). В цій же роботі була запропонована модель пріонного полімеру, згідно з якою ділянка з 8 до 26 а.з. розміщена на його поверхні й тим самим забезпечує полімеризацію лише тих молекул *Sup35*, які мають область гомології до цієї ділянки. Нещодавно отримані відомості, які свідчать про правомірність цієї моделі: молекули *Sup35NM* орієнтовані вздовж амілоїдної фібрили таким чином, що початкові ділянки пріонних доменів сусідніх молекул взаємодіють (Krishnan, R., Lindquist, S.L., 2005).

Ще одну мутацію *PNM* було виявлено в ділянці гена *SUP35*, який відповідає другому повтору області *NR*. Ця мутація, призводить до заміни гліцину на аспарагінову кислоту в 58 положенні, й мала домінантний прояв (Doel S.M. et al., 1994). Мутантний білок був здатний переходити в пріонний стан, однак *in vitro* швидкість такого переходу була приблизно у два рази нижчою (Kochneva-Pervukhova N.V. et al., 1998). Найбільш імовірний механізм елімінації [*PSI+*] за присутності мутантного *Sup35* пояснюється здатністю молекул мутантного білка приєднуватися до ростучого полімеру *Sup35* й уповільнювати його подальший рост. Ця гіпотеза підтверджується зменшенням розміру пріонних полімерів *Sup35*, яке спостерігається під час одночасної експресії мутантного білка *Sup35* і білка дикого типу (Д. Криндушкін, неопубліковані відомості). Делеційний аналіз пріонного домена *Sup35* (Parham S.N. et al., 2001) показав, що для підтримання [*PSI+*] необхідна область з 1 до 93 а.з. *PrD*, яка включає район *NQ* і п'ять повторів району *NR*. Видалення шостого неповного повтора області *NR* (*R6*) призводило лише до слабо вираженого ослаблення супресорного фенотипу [*PSI+*] й зменшення його мітотичної стабільності. Заміна алелі *SUP35* дикого типу на алель, яка несе делецію п'ятого (*R5*) і шостого (*R6*) повторів призводила до втрати [*PSI+*]. Однак, послідовне видалення повторів *R6*, *R5*, *R4*, *R3* не відбивалось на здатності мутантних *Sup35* коагредувати з повнорозмірним білком *Sup35* в клітинах [*PSI+*]. Надпродукція мутантних химерних білків, в яких послідовність *GFP* була приєднана до *Sup35NM* з делеціями частини амінокислотних повторів в пріонному районі, могла індукувати виникнення [*PSI+*] *de novo* в клітинах, які експресували *Sup35* дикого типу (Osheroivich L.Z. et al., 2004).

Таким чином, молекули *Sup35*, кількість амінокислотних повторів яких зменшена, можуть коагрегувати з повнорозмірним *Sup35* і навіть стимулювати виникнення [*PSI+*] *de novo*, але не здатні підтримувати [*PSI+*] (крім *Sup35*, який містив п'ять повторів в пріонному домені). На підставі цих спостережень була запропонована модель, згідно з якою область, що містила район *NQ* й початок району *NR* пріонного домену *Sup35*, необхідна й достатня для агрегації й росту пріонних полімерів. В цьому разі значна частина області *NR* забезпечує взаємодію полімерів *Sup35* з шаперонами і, як наслідок цього, їх фрагментацію, а відповідно й розмноження (Osherovich L.Z. et al., 2004). З іншого боку, є дослідження, які вказують на значення амінокислотних повторів області *NR* для процесу полімеризації *Sup35* (Liu J.J., Lindquist S., 1999). Рекombінантний вкорочений *Sup35*, в якому видалені чотири повтори (з другого по п'ятий), утворював полімери *in vitro* значно повільніше, ніж повнорозмірний *Sup35*. Рекombінантний подовжений *Sup35*, який містить дві додаткові копії другого повтору, полімеризувався *in vitro* швидше, ніж *Sup35* дикого типу, шляхом скорочення лаг-фази пріонного переходу, тобто більш швидкого утворення “ядер”. Згідно з запропонованою моделлю, елімінація [*PSI+*] мутантним білком *Sup35* за його коекспресії з нормальним *Sup35* може бути опосередкована або дефектом полімеризації *Sup35*, або порушенням фрагментації полімерів які утворюються (Osherovich L.Z. et al., 2004; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

## ШТАМИ ПРІОНІВ

Нині пріонний білок ідентифікований у людини, й у багатьох інших живих організмів. Цей білок є особливим, адже в нього існує як мінімум дві біологічно активні структури, або ізоформи, тобто “фізіологічна” або “нормальна” *PrP<sup>C</sup>* (від англ. *cellular* або *common*) і пов'язана з патологією, *PrP<sup>Sc</sup>* (від англ. *scrapie*) або *PrP<sup>d</sup>*. Один і той же амінокислотний ланцюжок укладений по-різному: в *PrP<sup>C</sup>* більше альфа-спіралей, в *PrP<sup>Sc</sup>* більше листовидних бета-структур. Виявилось, що патологічна структура може “заражати” нормальні молекули, примушуючи їх змінювати конформацію. Патогенні пріони формують в нервових клітинах агрегати – волокна, які й є причиною хвороби. Пріони видоспецифічні, тобто відрізняються у різних біологічних видів. Однак в окремих випадках останнє не перериває міжвидову передачу інфекції (новий варіант БКЯ, коли збудник потрапив від

ВРХ до людини й спричинив захворювання)(Nudelman R., 2004). Сприйнятливими до пріонних захворювань виявились не лише вівці й ВРХ, а також шимпанзе, білі миші й хом'яки, адже виявились доволі зручними моделями для детального вивчення цих хвороб.

Передача пріонних інфекцій між різними видами ссавців обмежена міжвидовими бар'єрами (Pattison I.H., 1965; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007). Губчасті енцефалопатії передаються між особинами одного виду або особинам близькоспоріднених видів. Наприклад, хвороба Крейцфельда-Якоба передається від людини людині, й від людини до шимпанзе; скрепі передається серед овець і кіз, але не передається шимпанзе. Також невідомі випадки зараження збудником скрепі людини (Prusiner S.B., 1982). Водночас міжвидові бар'єри не є абсолютними. Наприклад, можливе зараження хом'яків збудником скрепі і кіз збудником хвороби Крейцфельда-Якоба. Міжвидові бар'єри можуть характеризуватися не лише неможливістю передачі збудника інфекції тваринам віддаленого виду, але й подовженням інкубаційного періоду, а також і тим, що хворіють не всі заражені експериментально тварини, а лише якась їх частина (Clarke A.R. et al., 2001). Вважається, що міжвидові бар'єри гарантують часткову несприйнятливість видів, внаслідок відмінностей у первинній структурі *PrP* у ссавців різних видів. Підтверджують ці факти результати дослідів із трансгенними мишами, які експресують *PrP* хом'яків. Останні виявились високочутливими до зараження пріонами хом'яків на відміну від мишей дикого типу (Prusiner S.B. et al., 1990). Передача хвороби Крейцфельда-Якоба від людини до миші обмежена міжвидовим бар'єром, однак трансгенні миші, які експресують *PrP* людини, заражаються цією хворобою (Collinge J. et al., 1995). Згодом з'ясувалось, що розвиток пріонної інфекції залежить від генетичних особливостей (більш тривалий інкубаційний період скрепі в овець був пов'язаний з геном, який позначали як *Sinc* в мишей (*from scrapie incubation*) та *Sip* в овець з більш коротким інкубаційним періодом (*from shorter incubation period*)(Fraser H., Dickinson A.G., 1973; Dickinson A.G., Outram G.W., 1988), а передача й сприйнятливість обмежена не лише відмінностями в первинній структурі білка *PrP*, але й штамовими характеристиками пріону (Bruke M. et al., 1994; Hill M. et al., 1997).

Ранні випадки міжвидової передачі пріонів були реалізовані після експериментального зараження тварин суспензіями мозку хворих тварин (Cuille J., 1936). Перші експерименти були проведені на вівцях (Plummer P.J., 1946). Згодом Pattison I.H. et al. (1959, 1961) повідомили

про декілька успішних експериментальних заражень кіз збудником скрепі. До того часу було з'ясовано, що пріони можуть переходити від одного виду тварин до іншого (матеріалом від хворих на трансмісивну енцефалопатію норок успішно заразили овець і кіз)(Hadjlow W.J. et al., 1987). Універсальною сприйнятливою лабораторною твариною для більшості штамів пріонів виявилась руда полівка (Nonno R. et al., 2006; Watts J.C. et al., 2014; Orrú C.D. et al., 2015). Водночас були дослідження де було показано неможливість подолання видового бар'єра (наприклад певними ізолятами скрепі не вдавалось заразити велику рогату худобу)(Robinson M.M. et al., 1995).

З розвитком технологій розведення й використання трансгенних мишей зараження їх чужорідним *PrP* (за присутності або за відсутності ендегенного мишачого *PrP*) були значно розширені можливості зоонозної передачі пріонів. Ці підходи виявились універсальними, оскільки було продемонстровано, що розвиток пріонної патології залежить виключно від наявності *PrP*, який може бути конвертований у *PrP<sup>Sc</sup>* (Collinge J. et al., 1995; Büeler H. et al., 1993; Telling G.C. et al., 1994; Brandner S. et al., 1996). Такі експерименти показали, що практично, за певних програмованих параметрів адаптації пріона, подолання видового бар'єра й розмноження в новому господарі є можливим (Igel-Egalon A. et al., 2018).

Згодом в історії науки про пріони з'явився факт, що пріонні агенти можуть мати певні штамові характеристики, на кшталт з патогенами, які кодуються ДНК. Характеристики штамів включали низку параметрів, таких як час інкубаційного періоду, титрування тощо, саме в організмі певного господаря. З часом додалися такі характеристики, як локалізація й інтенсивність вакуолізації, що дозволило додатково схарактеризувати штами пріонів, які повторно використовувались для вивчення й адаптації під час передачі від одного господаря до іншого (Fraser H., Dickinson A.G., 1973). З удосконаленням методів біохімічного й біофізичного аналізу нині виявлені ще декілька параметрів, які характеризують штами (Igel-Egalon A. et al., 2018).

Під час характеристики пріонних захворювань спочатку провідне значення надавалось саме клінічному прояву. В людей, після завершення тривалого доклінічного періоду хвороби маніфестація характеризувалась сенсорними порушеннями, депресією. Потім швидко наставав поступальний моторний параліч і деменція. Мозочкова атаксія часто виявлялася в процесі захворювання (Asher D.M. et al., 1976). У тварин клінічні ознаки характеризувались атаксією що прогресує, але деякі особливості, такі як свербіж і розчісування,

були специфічними саме для них. Також реєстрували модифікаційні зміни поведінки, у тому числі агресивність або більш лагідна поведінка відносно людей (Pattison I.H. et al., 1959). Звернули увагу також на той факт, що на деякі особливості прояву хвороби впливав певний штам (Pattison I.H., Millson G.C., 1961; Lowenstein D.H. et al. 1990). Згодом почали вести мову про те, що ураження певних ділянок мозку пов'язані з “профілями ураження” окремих штамів (Telling G.C. et al., 1994). На початку вивчення характеристик штамів пріонів критерій тривалості інкубаційного періоду мав велике значення (Kimberlin R.H. et al., 1989). Наприклад, штам 263K спричинював загибель золотистого хом'яка за 65 діб, в той час, як штам 139H – лише за 130 діб (після зараження в мозок). Як виявилось, розведення матеріалу також впливало на час інкубації (Kimberlin R.H., Walker C.A., 1979; Prusiner S.B. et al., 1980). Імунореактивність антитіл, які реагували на  $PrP^{Sc}$  дозволила значно розширити характеристики штамів пріонів (Lowenstein D.H. et al., 1990). Хоча пріони кінцево накопичуються в центральній нервовій системі (ЦНС) свого господаря, периферійне накопичення також може бути пов'язане з окремими штамми пріонів, на відміну від тих, які виявляються лише в головному мозку: в цьому відношенні найбільш придатними тканинами виявились вторинні лімфоїдні органи, такі як лімфатичні вузли і селезінка (Mould D.L. et al., 1970). Цей лімфотропізм може визначати також відмінність між штамми пріонів (Béringue V. et al., 2007).

*Біофізичні параметри (круговий дихроїзм, інфрачервоне опромінення тощо).* Було використано декілька біофізичних підходів для з'ясування параметрів, які лежали в основі феномена біологічного штаму. Із-за значної нерозчинності й доволі неоднорідних властивостей пріонного матеріалу всі традиційні підходи (рентгенівська кристалографія, ядерний магнітний резонанс – ЯМР) здебільшого виявились безуспішними для отримання кристалів доброї якості або гомогенних розчинів для визначення патологічної структури  $PrP^{Sc}$ . Хоча якраз за допомогою методів інфрачервоного опромінення на початку досліджень були виявлені значні відмінності між штамми (Caughey B. et al., 1998). Спектри поглинання штамів від хом'яків *Hyper*, *Drowsy* і 263K показали відмінності між штамом *Drowsy* й двома іншими. Ці результати були інтерпретовані як відмінності у вторинних структурах  $\beta$ -листіків. Використовуючи комбінацію декількох методів дослідження, було показано, що структурні властивості двох видів фібрил, які утворюються в різних експеримента-

льних умовах, відповідають різним патернам збирання  $\beta$ -листків (Ostapchenko V.G. et al., 2010). Зображення ЯМР виявились малоінформативними під час вивчення структури  $PrP^{Sc}$  через нерозчинність. Й навпаки, обмін водень / дейтерій виявився корисним щодо контролю методами ЯМР (Cobb N.J. et al., 2014). Мас-спектрометрія з використанням ацетилювання доступних лізінів в структурі  $PrP^{Sc}$  додала деякі аргументи на користь  $\beta$ -соленоїдної форми патологічної пріонної структури (Silva C.J. et al., 2016). Крім того, цей підхід дозволив виявити структурні відмінності між декількома розповсюдженими штамми пріонів. Характерно, що пріонний штам хом'яків *Sc237*, який має *N*-кінцевий фрагмент, менше реагував з пріонним білком ВРХ, ніж інші протестовані штамми хом'яків. Ці дослідження також були підтверджені обробкою протеазою штаму *Sc237* (він виявився менш чутливий до *PK*-перетравлення). Стійкість до розщеплення протеазою  $PrP^{Sc}$  використовується як золотий стандарт для виявлення інфікованих зразків (Igel-Egalon A. et al., 2018).

*Біохімічні методи* (вестерн-блотинг, стійкість до хаотропних агентів, конформаційно-залежні імунні аналізи тощо). На самому початку вивчення пріонів діагностичним інструментом була стійкість патологічної форми  $PrP^{Sc}$  до протеїнази-*K*, оскільки більшість антитіл, які продукувались на *PrP*, не дозволяли розрізняти нормальні  $PrP^C$  і патологічні форми  $PrP^{Sc}$  пріонного білка під час проведення вестерн-блотингу. Ізоформа  $PrP^{Sc}$  є частково резистентною до розщеплення найбільш розповсюдженими протеазами, серед яких протеїназа *K* (*PK*). Дослідниками із застосуванням вестерн-блотингу було виявлено три основних конформації (відповідно до розмірів ядра) стійких до протеаз (21 кДа – тип 1; 19 кДа – тип 2; 8 кДа з деякими специфічними антитілами, які специфічно розпізнавали окремі з цих типів, наприклад, такі як 12B2, антитіло, специфічне до типу 1)(Langeveld J.P. et al., 2006). Однак такий розподіл типів пріонів, як правило, не є виключним. Адже у декількох випадках *CJD*, їх збудники пріони виявились сумішшю типів 1 і 2 (Cali I. et al., 2009). Питання про те, що стало причиною появи суміші збудників в одному організмі, біохімічні процеси або випадковість залишилось відкритим (Igel-Egalon A. et al., 2018).

Розмір резистентного ядра залежить від штаму пріона, й його оцінка й нині є “золотим стандартом” пріонного аналізу. Картування антигенних епітопів  $PrP^{Sc}$ , індукованих проти різних штамів пріонів, показало специфічну імунореактивність (Bessen R.A., Marsh R.F., 1992), що вказувало на конформаційні відмінності під час збирання



*PrP<sup>Sc</sup>*. Навіть якщо до антигенів *PrP* різних видів було отримано декілька моноклональних антитіл (*mAb*), переважно *mAb* були поганими дискримінантами, й перехресна реактивність часто реєструвалась між мишами, хом'яками, людиною й найбільш розповсюдженими тваринами, як, наприклад у випадку конформаційного антитіла 15B3 (Korth C. et al., 1997). Такі *mAb* не можна було використати для диференціації нормальних і патологічних *PrP*. Згодом були розроблені альтернативні підходи для вивчення й конформаційного скринінгу пріонних штамів (Safar J. et al., 1998).

Вченими використовувався також конформаційно-залежний імунний аналіз (*CDI*). Цей метод ґрунтується на диференційному розпізнаванні немодифікованих *PrP* або змінених епітопів *PrP<sup>Sc</sup>* з метою визначення співвідношення, яке можна використати для прямого кількісного визначення пріона в пробі. Цей метод показує, що більш як 90% *PrP<sup>Sc</sup>*, які наявні у пацієнтів з *sCJD*, є *PK*-чутливими (Safar J.G. et al., 2005); на додаток, це співвідношення може варіювати від штаму до штаму, як це було виявлено дослідниками у восьми штамів пріонів, які були виділені від хом'яків (Safar J. et al., 1998). Зокрема, цей підхід дозволяє краще розрізнити штами пріонів, які не можна відрізнити лише за *PK*-стійкістю. Однак такий підхід не дозволить диференціювати споріднені пріони, хоча й показує, що збирання *PrP<sup>Sc</sup>* має різний ступінь стабільності за присутності хаотропних обробок, які виявляють епітопи (Choi Y.P. et al., 2010).

Посттрансляційні модифікації білка були запропоновані для пояснення варіацій штамів *PrP*. Наприклад, пріонний білок містить два сайти глікозилювання, розміщених в структурованій *C*-кінцевій частині білка. Обидва сайти *N*-глікозилювання консервативні в гені *PRNP* серед видів, що дозволяє припустити, що *N*-глікани відіграють важливу роль в функції білка. Однак ці сайти не глікозилюються систематично, як показала наявність 3 смуг, виявлених в вестерн-блотингу з антитілами до *PrP*. Характер глікозилювання змінюється від одного штаму до іншого, з варіаціями у відносній чисельності ді-, моно- і неглікозилюваних форм, і навіть нормальне глікозилювання *PrP<sup>C</sup>* по-різному буде залежати від пріонного штаму (Mays C.E. et al., 2014). Однак дефіцит глікозилювання в одному або іншому сайті глікозилювання не змінює сприйнятливості господаря до пріонів скрепи (Neuendorf E. et al., 2004). До того, ознаки штаму не змінювались, коли цих мишей з мутантним глікозилюванням використовували для біологічних аналізів. Цей результат згодом було підтверджено дослідями *in vitro*, в результаті яких встановили

що декілька мутантів гликозилювання *PrP* є матрицями для *PMCA* (циклічна ампліфікація з неправильним згортанням білків) (Moudjou M. et al., 2016). Однак в інших дослідженнях повідомлялось, що сіалові кислоти, які відкладаються на ланцюгах глікана, можуть суттєво впливати на реплікацію пріонів: десиалійований *PrP<sup>Sc</sup>* здебільшого виявляється й виділяється з печінки, в той час, як нормальні пріони є націленими на вторинні лімфоїдні органи (Srivastava S. et al., 2017). Між тим, як повідомлялося, що десиаліювання пріонів знижує міжвидовий бар'єр (Katorcha E. et al., 2014). Ці відомості особливо актуальні відносно результатів міжвидової передачі (Igel-Egalon A. et al., 2018).

Із-за доволі тривалого інкубаційного періоду пріонні захворювання й нині тяжко вивчати *in vivo*. Хоча клітинні системи були розроблені в декількох лабораторіях, однак такий підхід не вдалося застосувати до всіх видів пріонних штамів. Попри такі труднощі, групою дослідників на чолі з С. Weissmann, були отримані цікаві результати щодо адаптації й селекції пріонних штамів *in vitro* (Mahal S.P. et al., 2007; Li J. et al., 2010; Weissmann C. et al., 2011; Weissmann C., 2012; Oelschlegel A.M., Weissmann C., 2013). Вони вперше показали, що лінії нейронних клітин, хронічно інфіковані двома пріонними штамми (*RML* і *22L*), можуть бути отримані з декількох різних клітинних ліній з їх власною відповіддю на відмінні інші пріонні штами (Mahal S.P. et al., 2007). Хоча вони могли якимось чином стабілізувати пристосовані до клітин пріонні особливості, відмінні від пристосувань пріонів до мозку, відбувалось виникнення “дарвинівського відбору”, який дозволяв перехід від одного пріона до іншого (Li J. et al., 2010). Подальший відбір може бути навіть досягнутий використанням селективних інгібіторів пріонних лікарських засобів, таких як свайнсонін, демонструючи, що характеристики штаму, які спостерігаються, значною мірою залежать від умов продукування пріонів (Li, J. et al., 2010; Oelschlegel A.M., Weissmann C., 2013). В контексті заявленому Weissmann C. et al. була лише доповнена концепція квазивидів, запропонована Collinge J. і Clarke A.R. (2007), яка складалась із головного компонента й значної кількості варіантів, які постійно генеруються й відбираються у конкретному середовищі: зміна умов може призвести до вибору нового варіанта з іншими функціями.

Деякі аспекти ампліфікацій *PMCA* і *RT-QuIC* (*Real Time Quaking-induced Conversion*; метод індукованої вібрацією конверсії рекомбінантних пріонів в реальному часі) були вивчені й використані для



виявлення пріонів в рідинах організму або для оцінки й перевірки процедур дезактивації (Sano K. et al., 2013; Saá P., Cervenakova L., 2015). Метод *PMCA* був вперше описаний Saborio G.P. et al. в 2001 році, й включає циклічну ампліфікацію незначних кількостей інфекційного матеріалу, розведеного в лізаті мозку, який містить солюбілізовані форми *PrP<sup>C</sup>*.

Повторення імпульсів ультразвукової обробки протягом декількох секунд з наступною інкубацією за 37°C призводить до експоненціальної трансформации *PrP<sup>C</sup>*, який присутній в нормальному лізаті мозку, в форму, стійку до *PK*. Потім *PrP<sup>Sc</sup>* виявляють на дот- або вестерн-блотах після *PK*-розщеплення. Фактично були досягнуті коефіцієнти ампліфікації й можливості титрування, які виходять далеко за межі, отримані за допомогою біоаналізів: зазвичай проводили 1012 ампліфікацій з лабораторними штамами скрепі (Moudjou M. et al., 2013), а система дозволяє ампліфікувати значну кількість штамів, хоча іноді й меншою мірою. Однак цей знижений рівень посилення можна значною мірою компенсувати після декількох раундів посилення. Складність ампліфікації спорадичної *MM1 CJD* була помітним виключенням, поки дослідники не повідомили, що модифікована *PMCA* з використанням негликозилюваного *PrP* була здатна вибірково ампліфікувати *sCJD 1* типу (Haldiman T. et al., 2013).

Дослідники довели відносно високу вірогідність методу пріонної ампліфікації (*PMCA*), відносно використовуваних нині інструментів (час інкубації, оцінка ураження головного мозку, профіль вестерн-блотингу, стійкість до *PK*) (Castilla J. et al., 2005, 2008). Таким чином, цей інструмент ампліфікації *in vitro* виявився доволі ефективним методом для оцінки подолання бар'єрів патологічними пріонами. Найбільша перевага порівняно з біотестами це доволі значне скорочення часу необхідного для проведення цих досліджень (Green K.M. et al., 2008). Була описана *PMCA* з використанням лізата трансгенного мозку мишей як джерела клітинного *PrP<sup>C</sup>*. Однак універсальність системи може бути додатково збільшена шляхом використання культивованих клітинних лізатів. Останнє було використано дослідниками для подальшого аналізу вимог для перетворення *PrP<sup>Sc</sup>* (Munoz-Montesino C. Et al., 2016, 2017). Додаткові експерименти показали, що перетворення й ампліфікація рекомбінантного білка *PrP* може відбуватись лише за присутності РНК або фосфоліпідів як ад'ювантних молекул (Castilla J. et al., 2008; Green K.M. et al., 2008; Deleault N.R. et al., 2003, 2005, 2007; Wang F. et al., 2010).

Одночасно з цим, як уже зазначалось, було розроблено *RT-QuIC* як ще один метод для *in vitro* ампліфікації пріонної конверсії (Wilham J.M. et al., 2010). Рекombінантні молекули *PrP* призводять до фібриляції через альтернативне струшування й інкубації з тіофлавіном-*T* (*ThT*) як флуоресцентного маркера: збільшення флуоресцентного опромінення, яке можна спостерігати в режимі реального часу, є ознакою утворення амілоїду й перетворення *PrP*. Цей підхід виявився достатньо чутливим для виявлення пріонних часток в клітинах крові (Orrú C.D. et al., 2011) й різних рідинах організму (Henderson D.M. et al., 2015). Важлива відмінність між *PMCA* і *RT-QuIC* полягає в тому, що рекомбінантний *PrP*, який конвертується в експериментах *QuIC* є слабо заразним, тоді як продукти ампліфікації *PMCA* здебільшого не менш заразні, як і інокулят. Характерно, що цей метод не точно відтворює феномен видового бар'єра, який проявляється практично в усіх тварин. Однак, *RT-QuIC* виявився корисним для можливості розрізняти штами пріонів: *PrP* полівки може перетворюватися майже всіма штамами, протестованими в експерименті *RT-QuIC*. Однак сигнали фази запізнення і кінцевої флуоресценції можуть бути використані для встановлення відмінностей різних штамів пріонів (Orrú C.D. et al., 2015).

Сучасним методом автоматизованої білкової ампліфікації й ідентифікації пріонних білків зажиттєво (дослідження крові, сечі, слини, сліз на доклінічній стадії захворювання (крім *RT-QuIC*) є також *MDCK*-метод циклічної ампліфікації с дезінтеграцією тих, які утворюються (на первинних молекулах інфекційних пріонів у висхідному зразку) ультразвуком *PrP<sup>d</sup>*-подібних олігомерів (Sano K. et al., 2013; Zuev V.A. et al., 2020).

Ці результати досліджень аналогічні даним, отриманим на трансгенних мишах, які експресували *PrP* рудої полівки (Espinosa J.C. et al., 2016). Навпаки, використання декількох різних субстратів може бути застосоване з метою скринінгу для розрізнення дуже подібних штамів: наприклад, атиповий *BSE L*-типу і класичний *BSE* (Orrú C.D. et al., 2015). Флуоресцентний підхід для розрізнення штамів пріонів був запропонований групою шведських дослідників із застосуванням похідних оліго-/полі-тіофену (Magnusson K. et al., 2014). Мишачі пріони скрепі й *CWD* порівняли за спектрами збудження / пригнічення, а також за часом існування флуоресценції деяких сполук. Адже останній параметр змінюється у відповідь на конформаційне обмеження тіофенового скелета після взаємодії з різними агрегатами. Всі ці методи можуть бути удосконаленими інструментами для

диференціації штамів, які тяжко піддаються типуванню у тварин (Igel-Egalon A. et al., 2018).

*Розподіл агрегатів за розмірами* (четвертинна структура). Біофізичні підходи ґрунтуються на аналізі розподілу часток пріона за розмірами. Якщо інформація про деформацію не повністю переноситься на первинну або вторинну послідовність, то вона має бути якимось чином пов'язана з третинною або четвертинною структурою збирань *PrP<sup>Sc</sup>*. В декількох дослідженнях навіть вказувалось на певну роль структури *PrP* в розвитку патологічних процесів транс-конформації пріонів (Collinge J. et al., 1996; Caughey B. et al., 1998; Castilla J. et al., 2008; Bessen, R.A., Marsh, R.F., 1994; Bessen R.A. et al., 1995).

Центрифугування з метою седиментації в градієнтах густини довело свою ефективність під час розділення й аналізу пріонних фрагментів відповідно до їх розміру і / або форми, зберігаючи в максимально можливому ступені “природний” стан мультимеризації пріонних часток і мінімізуючи артефакти через неправильну солюбілізацію мембрани. Цей метод дозволив точно розрізнити декілька ліній штамів овець і хом'яків. Невідповідність між рівнем інфекційності фракцій (відстежування за допомогою біоаналізу) й кількістю *PrP<sup>Sc</sup>* (оцінювання із застосуванням методу вестерн-блотингу) спеціально для “швидких” штамів овець і хом'яків стало відкриттям із застосуванням цього підходу (Tixador P. et al., 2010; Laferrière F. et al., 2013).

Результати цих експериментів призвели до думки, що пріони сформовані із колекцій неоднорідних *PrP<sup>Sc</sup>*-зборок з заданою деформацією й певною активністю (Igel-Egalon A. et al., 2018). В деяких випадках, попри комбінацію декількох методів дослідження, два штами не виявляли відмінностей. Наприклад, було помічено, що деякі штами скрепі можуть демонструвати характеристики подібні до *BSE*. В зв'язку з цим виникло питання, чи може збудник *BSE* дійсно походити від штамів скрепі (Baron T.G. et al., 1999). Згодом ідентифікація атипової *BSE L*-типу у великої рогатої худоби знову спричинила сумніви щодо можливої передачі *BSE* дрібним жуйним тваринам (Casalone C. et al., 2004).

Вперше *BSE L*-типу описаний в стаді в Італії, коли поведінка хворих тварин значно відрізнялась від класичного перебігу *BSE* (спостерігали так само наявність амілоїдних бляшок і низький рівень неглікозильованого фрагмента *PrP<sup>Sc</sup>*). Однак після пасажування на овінізованих тваринах (алель *VRQ*) цей штам виявився повністю

аналогічним *C-BSE* (класичному), що спонукало дослідників висунути гіпотезу про те, що спалах “коров’ячого сказу” наприкінці 80-х рр. міг виникнути внаслідок потрапляння збудника від дрібних жуйних. Фактично, ці два штами, хоча й проявляли себе практично однаково після зараження овінізованих мишей, зберігали свої видові характеристики, оскільки їх все ще можна було диференціювати в разі наступних зворотних пасажів на мишах бичачих ліній. Крім того, *L-BSE* можна відрізнити від класичного за його значною схильністю до колонізації лімфоїдних компартментів. Таким чином, вивчення реплікації пріонів в лімфоїдній тканині й експерименти зі зворотним зараженням (або з використанням інших проміжних видів) можуть бути корисні для розрізнення дійсно ідентичних штамів і дуже подібних штамів (Igel-Egalon A. et al., 2018).

*Вивчення можливостей подолання видового бар’єра різними пріонами.* Нині відомо, що для перетинання видового бар’єра пріонами потрібно багато часу. Проте вже адаптовані пріони здебільшого вбивають всіх заражених тварин в межах декількох тижнів або місяців значно зменшуючи час інкубації, який може варіювати від 60 до 700 і більше днів для окремих мишей. Навпаки, неадаптовані пріони здебільшого мають частоту неповної атаки й час інкубації є надзвичайно тривалим. Однак в процесі адаптації пріони відновлюють повну швидкість атаки й скорочують час інкубації, хоча, в процесі адаптації до організму нового господаря можуть змінюватись й інші характеристики (час кінцевої інкубації, розподіл пріонів в тканинах, стійкість до *PK* тощо). Варіації пріонів від штаму до штаму часто пов’язані з передачею від одного виду до іншого. В деяких випадках це може навіть призвести до адаптації декількох різних штамів: зараження хом’яків збудником трансмісивної енцефалопатії норок (*TME*) призвело до відбору двох різних штамів, залежно від розведення біологічного матеріалу (Bartz J.C. et al., 2000). Рівень експресії *PrP<sup>C</sup>* сприяє формуванню абсолютно різних популяцій пріонів (Le Dur A. et al., 2017). Останнє ставить багато питань відносно зоонозних і епідемічних ризиків таких захворювань як *BSE* або новий варіант *CJD* (Igel-Egalon A. et al., 2018).

Перші дослідження з пріонами в напрямі подолання ними видових бар’єрів були проведені Kimberlin R.H., Walker C.A. (1978, 1979). Вони адаптували пріони скрепі (штам 263K), які підтримувались в організмі хом’яків до організму лабораторних мишей, й практично їм не вдалося адаптувати цього збудника до організму останніх. Однак, приблизно через 20 років безсимптомна реплікація пріо-

нів хом'яка була продемонстрована в організмі мишей (Race R., Chesebro B., 1998; Hill A.F. et al., 2000). Попри відсутність клінічних ознак, у половини заражених мишей дослідники визначали певні рівні  $PrP^{Sc}$  в головному мозку, а також виявляли наявність в головному мозку специфічних губчастих змін характерних для скрепі.

В дослідах з використанням трансгенних мишей, які експресували  $PrP$  хом'яка, вдалося передати пріон хом'яка мишам, що вказує на те, що відмінності в амінокислотному складі  $PrP$  деякою мірою й формують видовий бар'єр (Prusiner S.B. et al., 1990). Згодом методи  $PMCA$  підтвердили, що пріони мишей (штам  $RML$ ) можуть поступово адаптуватися до організму хом'яків (Castilla J. et al., 2008).

Адаптація *in vitro* може досягатися за 4–6 пасажів (приблизно 2 тижні, в той час, як для адаптації *in vivo* потрібно більше 3 років). Цими обома прийомами пріони хом'яків (штам 263K) можуть бути адаптовані для мишей. Обидва напрямки адаптації призвели до отримання пріонів з тонкими варіаціями часу інкубації,  $PK$ -стійкості, характеру відкладання в головному мозку, профілю глікозилювання тощо. Ці результати показують, що, хоча вони доволі схожі на те, що спостерігається *in vivo*,  $PMCA$ -залежний процес адаптації відрізняється від того, що ми спостерігаємо в звичайних умовах. Спалах “коров'ячого сказу” в 90-і роки спонукав доволі інтенсивні дослідження механізмів, які стосувались подолання видового бар'єра окремими штамми пріонів. Дослідження здатності пріонів  $BSE$  розмножуватися в організмі нових видів господарів призвело до раннього висновку, що агент  $BSE$  не може інфікувати мишей, які експресують лише людський  $PrP$  ( $HuPrP + / + PRNP0 / 0$ , валін алей в позиції 129) (Collinge J. et al., 1995). Згодом з'ясувалось, що пріонам  $BSE$ , потрібно більше часу, ніж пріонам  $CJD$  для зараження й реплікації в мишей, які експресували людський  $PrP$ . В тій самій лабораторії було встановлено можливість передачі  $BSE$  макакам і котам (Collinge J. et al., 1996). Bruce M.E. et al. (1997) повідомили, що агенти  $BSE$  і  $vCJD$  однаково реплікувались в деяких лініях звичайних мишей й спричинювали формування одного й того ж фенотипу штаму, тим самим підтверджуючи зв'язок між епізоотією  $BSE$  і випадками  $vCJD$  в людей у Великобританії й Франції. Згодом були надані неспростовні докази того, що  $BSE$  і  $vCJD$  були етіологічно пов'язані. Після зараження  $BSE$  і  $vCJD$  ліній бовінізованих мишей розвивались ідентичні патологічні зміни, причому збігався час інкубації, розподіл уражень у мозку, профілі  $PK$ -стійкості. Ці профілі абсолютно відрізнялись від тих, які виникали після зараження скрепі

(Scott M.R. et al., 1999). Дослідниками були розроблені інші лінії трансгенних мишей з надлишковою експресією алелі *Met* людського *PrP*, досліди з якими додатково підтвердили складний зв'язок між *BSE* і *vCJD* (Asante E.A. et al., 2002; Béringue V. et al., 2012).

Нині багато дослідників говорять про можливий зоонозний потенціал пріонів *CWD*. Проте ще на початку 90-х років минулого століття повідомлялось, що *CWD* здебільшого розповсюджується лише між дикими оленячими, які утримуються у неволі (Williams E.S., Young S., 1992). Дослідники США робили передбачення про те що збудник з часом може адаптуватися до інших видів тварин, адже хвороба вже рееструється більше як 30 років на території цієї держави й нині зареєстрована в Скандинавії (Watts J.C. et al., 2006; Benestad S.L. et al., 2016). Вже відомо, що пріони *CWD* можуть адаптуватися до мишей певних ліній, які експресують високі рівні мишачого *PrP* (Sigurdson C.J. et al., 2006). Навіть після одного пасажу штаму, ймовірно, стабілізувався, в цьому разі миші переважно гинуть приблизно через 220 діб після зараження, всі інші ознаки хвороби схожі зі справжньою *CWD*, включно із тропізмом селезінки. Дослідники описали протилежну поведінку двох різних штамів *CWD*: штаму *CDW1* передавався хом'якам, але не передавався мишам; навпаки, штаму *H95* + ефективно інфікував мишей, в той час, як хом'яки виявились менш сприйнятливими (Herbst A. et al., 2017). Висунуто гіпотезу, що природна стійкість людини до *CWD* залежить від певної ділянки амінокислоти в  $\beta 2$  петлі *PrP*; замінивши цей домен доменом *elk PrP*, дослідники "створили" мишей, які експресували цей мутантний *PrP* й виявились абсолютно сприйнятливими до *CWD* (Kurt T.D. et al., 2015).

З'явилась також наукова робота, в якій вказувалось що *CWD* може передаватися орально макакам *synomologus* (Czub S. et al., 2017). Є види тварин-господарів сприйнятливі майже до всіх штамів, і навпаки. Наприклад, руда полівка в деяких випадках є чудовим акцептором пріонів і, навпаки, є стійкою до деяких видів пріонів включно зі спорадичним *CJD* (Di Bari, M.A. et al., 2008; Nonno R. et al., 2006). Передача цих пріонів береговим полівкам або трансгенним мишам, які надзвичайно активно експресували людський *PrP* призводить до захворювання з повною швидкістю атаки. Амінокислотна послідовність *PrP* рудої полівки й людини відрізняються на 12%. Останнє вказує на те, що конформація *PrP* берегової полівки сама по собі схильна до конверсії пріонами *CJD* людини. Було також показано успішне зараження цілою колекцією пріонних штамів тра-



нсенних мишей, які експресують *PrP* (M109) берегової полівки. Видові бар'єри частково залежать від первинної структури *PrP* господаря. Проте досліді показали, що видові бар'єри можуть долатись будь-якими пріонами. Для цього потрібна певна кількість часу, необхідна достатня кількість пасажів тощо. Було показано, що пріони хом'яків можуть уражувати мишей (Gao C. et al., 2017), пріонами *TME* можна заразити велику рогату худобу (Robinson M.M. et al., 1995), збудники *BSE* і *vCJD* можуть адаптуватися до морських свинок (Watts J.C. et al., 2016). Передача *CWD* від оленячих людині з кожним днем все більше ймовірна (Davenport K.A. et al., 2015). Пріоном *CWD* з *PMCA* можна заразити гомогенат мозку людини *in vitro*, але ефективність значно підвищується, якщо ампліфікація / адаптація пріона *CWD* раніше виконувалась через *PMCA* з використанням шаблону *CWD* (Barria M.A. et al., 2011), так само ефективним, з використанням такого підходу виявилось експериментальне зараження мавп які не належать до приматів (Marsh R.F. et al., 2005; Race B. et al., 2009).

*Важливість первинної послідовності, амінокислотний поліморфізм.* Первинна послідовність *PrP* природно визнається дослідниками як найбільш важлива складова у сприйнятливості до пріонних захворювань. Первинна послідовність (алельні варіації, точкові мутації), очевидно, є провідним вектором, який визначає сприйнятливість господаря до цього штаму. З появою трансгенних тварин стало легко перевіряти, може чи ні, певна послідовність *PrP* мати схильність до пріонних захворювань: в декількох дослідженнях повідомлялося про набуту сприйнятливості мишей після експресії рекомбінантних або химерних білків хом'яків (Scott M. et al., 1989; Race R.E. et al., 1995). Гомологія між патогенним пріоном і *PrP* господаря є необхідною умовою подальшого розвитку захворювання (Prusiner S.B. et al., 1990; Priola S.A., 1999; Saradin P. et al., 2015). В останньому випадку трансгенні кролі, які експресували овечий *PrP*, виявились повністю сприйнятливими до скрепі, й це показує, що біологія кроля й середовище його існування саме собою не є несумісним з трансконформацією пріона, хоча відомо, що ця тварина природно стійка до пріонної інфекції. Однак, враховуючи відомий приклад того, що руда полівка є універсальним акцептором, загальна думка, яка сьогодні є домінантною полягає в тому, що саме структурна сумісність між *PrP* господаря й штамом пріону, що заражає тварину визначає міжвидову передачу пріонів. Поліморфізм всередині одного виду тварин також має сильний вплив на сприйнятливості господаря.

Прикладом такого поліморфізму (схильність до захворювання залежно від породи) показана дослідниками за скрепі (Tranulis M.A., 2002; Goldmann W., 2008). На прикладі мутації *PrP* (мутація *I109M*) людськими хворобами *CJD* або *FFI* в рудой полівки з таким геном розвиваються спонтанні пріонні хвороби (Chen C., Dong X.P., 2016; Watts J.C. et al., 2012). Причому це явище не належить суворо до парадигми видового бар'єра. Однак саме мутації будуть впливати на сприйнятливості людей і тварин до пріонних захворювань (Tateishi J. et al., 1996).

Гомозиготний метіонін або валін в положенні 129 людського *PrP* є визначальним щодо чутливості до *CJD* (Palmer M.S. et al., 1991). Нині всі клінічні випадки *vCJD* зареєстровані в пацієнтів, які гомозиготні за метіоніном в кодоні 129 (Zeidler M. et al., 1997). Водночас генотип *V129* повністю захищає від *BSE* й не захищає від *vCJD* (Fernández-Borges N. et al., 2017). Наприклад, поліморфізм в положенні 219 (*E / K*) також пов'язаний зі стійкістю до пріонної інфекції в азійській популяції (Shibuya S. et al., 1998). Повідомлялось також, що поліморфізм *G / V* відповідає за повну стійкість до Куру, й дослідники повідомили, що швидше за все він виник внаслідок природного відбору в популяції, яка постійно піддавалась впливу збудника цього захворювання (Asante E.A. et al., 2015).

Слід також підкреслити, що цей поліморфізм впливає на популяційну генетику, оскільки породи історично більш сприйнятливі до скрепі, ніж інші, із-за варіацій генотипа в позиціях 136/154/171. Поліморфізм *M / V* в положенні 129 для людського *PrP* аналогічним чином контролює схильність і сприйнятливості людей до *vCJD* (Palmer M.S. et al., 1991). Дослідники повідомляли, що поліморфізм пріонного кодона 132 лося (оленячі) контролює розповсюдження пріонів *CWD* і скрепі (Green K.M. et al., 2008).

Виявилось, що трансгенні миші, які експресували мутантний *L132* лося, виявились стійкими до зараження пріонами *CWD* (відсутність клінічних ознак протягом 600 днів після зараження). Однак автори повідомили про виявлення незначних кількостей *PK*-стійкого *PrP<sup>Sc</sup>* в головному мозку тварин, заражених інокулятом *M / M132*, але не *M / L132*. Останнє говорить за те, що генотип *L132* не є стійким до патогенних пріонів, й швидше долається за адаптаційних пасажів для відбору повністю адаптованого пріона. Слід зазначити, що на відміну від пріонів лося, пріони хом'яків легко адаптувались до *132 L elk PrP*. Використовуючи як модель руду полівку, дослідники помітили що гетерозиготні за *I / M109* тварини мали приблизно



однакові кількості обох алельних форм *PrP* в пріонних частках (Cartoni C. et al., 2007). З часом, коли стали доступними трансгенні миші, трансгенний *PrP* експресувався сумісно з ендегенним. З'ясувалось також, що експресія як ендегенного, так і трансгенного *PrP* може призводити до дивних відповідей на пріонну інфекцію. З'ясувалось, що одна заміна амінокислоти може спричинити різке інгібування продукції пріонів в культурі клітин (Priola S.A. et al., 1994). В дослідженнях інших авторів також повідомляють про вплив додаткових факторів на ефективну реплікацію пріонів (Priola S.A., Chesebro B., 1995; Telling G.C. et al., 1995). Такі спостереження сприяли появі цілої серії публікацій про гіпотетичний білок X, який згадувався як кофактор в пріонному механізмі (Abid K. et al., 2010). Але більш пізні експерименти з конверсії *in vitro* повністю відкинули цю гіпотезу (Lee C.I. et al., 2007).

В разі зараження тварини різними штамами пріонів (збудники одного захворювання) існує конкуренція за субстрат між ними, й безумовно кількість доступного *PrP*, впливає на сприйнятливість або меншою мірою на кінетику хвороби. Крім того, кілька посттрансляційних модифікацій, які зазнають *PrP<sup>C</sup>* під час його подорожі до мембрани, також можуть вплинути на сприйнятливість/конвертованість *PrP* до пріонів (Igel-Egalon A. et al., 2018).

*Вплив шляху зараження пріонами на розвиток захворювання.* Лімфоїдний тропізм деяких штамів пріонів описаний давно (Mould D.L. et al., 1970). Було показано, що пріони реплікуються й накопичуються в фолікулярних дендритних клітинах (*FDC*) із зародкових центрів лімфатичних вузлів і селезінки. Було показано, що декілька інших ліній імунних клітин (таких як *B*-клітини, макрофаги) можуть переносити інфекційні пріони, однак також було продемонстровано, що *FDC* необхідні й можуть навіть самостійно забезпечити реплікацію пріонів в селезінці (McCulloch L. et al., 2011). Слід зазначити, що *FDC* не мають ні лімфоїдного, ні мієлоїдного походження, попри їх ключову роль в ініціації й підтримці імунної відповіді: швидше за все, вони походять із субендотеліальних клітин і диференціюються під час трофічних взаємодій з *B*-клітинами (Krautler N.J. et al., 2012). Макрофаги і *B*-клітини також фарбуються позитивно на *PrP<sup>Sc</sup>*, але вони здебільшого беруть участь в поглинанні *PrP<sup>Sc</sup>* й транспортуванні відповідно (Beringue V. et al., 2000; Montrasio, F. et al., 2001). Відповідно, лімфоїдний компартмент буде мати збалансований вплив на наступну частку периферійно набутих пріонів: з одного боку, функції макрофагів і, зокрема, очищення селезінки будуть

активно погіршувати або нейтралізувати інфекційність пріонів, а з іншого боку, *FDC* будуть сприяти активній реплікації пріонів, які потім доставляються до термінальних нервів, що закінчуються поблизу зародишевих центрів (Prinz M. et al., 2003). Таким чином, результативний лімфоїдний тропізм може бути результатом цього балансу (Shikiya R.A. et al., 2017). Добре відомо, що *vCJD*, на відміну від інших штампів *CJD*, активно реплікується в лімфоїдній системі людини (Ironsides J.W. et al., 2002). Таким чином, зараження через ротову порожнину штамом *vCJD*, сприяє потраплянню пріонів в пейерові бляшки голодної кишки, й сприяє виникненню захворювань значно частіше ніж іншими спорадичними формами *CJD*. Однак аналіз останнього задокументованого випадку Куру (у 2003 р.) показує, що, попри певне харчове забруднення, у пацієнта може не відбуватись типової для *vCJD* колонізації травного каналу. Останнє говорить про те, що периферійний патогенез Куру подібний до патогенезу, який спостерігається за класичної форми *CJD*, але не *vCJD* (Brandner S. et al., 2008), хоча одне з досліджень, кінець кінцем показало, що *sCJD* і *vCJD* накопичуються аналогічним чином в лімфоїдній системі (Brandner S. et al., 2008; Rubenstein R., Chang B., 2013). Таким чином, лімфотропізм штаму не обов'язково відбиває переважний шлях інокуляції. Це питання було вирішено шляхом порівняння пероральних і внутрішньомозкових шляхів зараження *BSE* у макак як моделі вивчення подолання видового бар'єра (Bons N. et al., 2002; Herzog C. et al., 2004) і загальних висновків, які говорять за те що лімфоїдний тропізм сам по собі не сприяє подоланню видових бар'єрів.

*Імунний статус і вік господаря.* Давно відомо, що імунний статус і вік господаря впливають на експресію *PrP* в органах-мішенях, таких як мозок, а також, особливо в лімфоїдних органах (Lotscher M. et al., 2003; Heikenwalder M. et al., 2005; Khalife M. et al., 2011). Як наслідок, сприйнятливість молодих овець до орального зараження *BSE* значно знижується після відлучення (Hunter N. et al., 2012). З іншого боку, у старих мишей, інфікованих внутрішньочеревно пріонами *RML*, час інкубації збільшується більш значно, ніж у молодих мишей із того самого гнізда (Avrahami D., Gabizon R., 2011). Останнє може бути пов'язане зі зменшенням фолікулярних зародкових центрів з віком (Brown K.L. et al., 2009). Таким чином, вік тварин може також впливати на перетинання пріонами міжвидового бар'єру. Наприклад, передача *BSE* була набагато ефективнішою у молодих мишей, в той час, як у більш старих тварин клінічні сим-

птоми були відсутніми протягом усього їх життя (Brown K.L., Mabbott N.A., 2014). Слід відзначити, що в окремих старих мишей пріони все-таки мали певні збільшені рівні в селезінці. Тобто, будь-який конкретний випадок перетинання видового бар'єра слід розглядати як наявність значної кількості рецепторів для контакту з патологічним пріоном.

*Селективність клітин або органів.* Реплікація пріонів в організмі тварини може різко зростати в декількох органах за межами центральної нервової системи. Можна навіть говорити про певну тканинну залежність (можливо тропізм, який як термін застосовується стосовно клітин і вірусів) у подоланні міжвидового бар'єра пріонами. Дослідники констатують, що можливість розмноження *PrP<sup>Sc</sup>* поза мозком (переважно у тканинах лімфоїдної системи) дозволяє пріонам розширювати коло господарів (Igel-Egalon A. et al., 2018). Адже у людей, які піддалися впливу агента *BSE* в Великобританії демонструвалось доволі значне накопичення *PrP<sup>Sc</sup>* в їх лімфоїдній тканині, без накопичення останнього у мозковій тканині (Gill O.N. et al., 2013). Окремі дослідники навіть вказували що говорити про якусь “вибірковість” нервової тканини для пріонів немає сенсу (Carp R.I. et al., 1997; Privat N. et al., 2017).

*Наслідки адаптації пріона до нового господаря.* В деяких дослідженнях говориться про те, що для адаптації окремих штамів до організму тварини потрібні значні періоди й значна кількість пасажів в організмі господаря (Race R. et al., 2001, 2002; Thackray A.M. et al., 2012). Пріони під час пасажування можуть зберігати риси батьківських штамів (Race R. et al., 2001). В інших випадках пасажовані пріони значно відрізняються від висхідних (Thackray A.M. et al., 2012). У пріонів може проявлятися також прогресивна еволюція, тобто відбуваються мутаційні зміни. Було показано, що атипова форма *BSE* (*BASE*) еволюціонує в форму, яку не можна відрізнити від *BSE* у мишей дикого типу (Carobianco R. et al., 2007). Інші дослідники описували прогресивну еволюцію від *H-BSE* до класичної *BSE*, коли штам серійно пасажували на мишах (Baron T. et al., 2011). Також дослідники зазначали, що переміжне пасажування через організм дрібних жуйних дозволяє *BSE* краще адаптуватися до трансгенних щодо людини мишей (Plinston C. et al., 2014; Priem J. et al., 2014). Загалом пріони *BSE*, атипові чи класичні, демонструють унікальні можливості адаптації до різних видів тварин (можливість подолання видового бар'єру) (Torres J.-M. et al., 2014). Прогресивна еволюція пріонів була підтримана групою дослідників на чолі

з Weissmann С., які виступили за дарвінівську модель еволюції пріонів через “німі мутації” (Li J. et al., 2010). Ці відомості були підтверджені експериментами *in vitro*, які встановлюють еволюцію пріонів, з використанням хімічних інгібіторів і відбором пріонних “квазивидів” від первісного однорідного пріонного штаму. Еволюційна концепція виникла зі спостереження, що два штами можуть бути доволі близькими за характеристиками один до одного, щоб їх можна було легко відрізнити, хоча й вони демонструють різний час інкубації. Крім того, ці штами можуть постійно еволюціонувати від одного штаму до іншого, що робить неможливим їх клонування (Angers R.C. et al., 2010).

*Синтез De Novo й оцінка видового бар'єра in vitro.* Таким чином, принаймні декілька років поспіль для визначення можливості подолання видового бар'єра використовувались лабораторні тварини. Однак навіть під час використання трансгенних мишей, які значно скорочували час інкубації порівняно з тим, що реєструється з цільовими тваринами, час, необхідний для отримання таких даних з 4-ма, і навіть 5-ма послідовними пасажами доволі тривалий, й, крім того, це потребує значної кількості таких тваринок. З цих причин почали прокладати собі дорогу альтернативні методи *in vitro*. Більшість із них проводилось з використанням методів *PMCA* або *QuIC* (Fernández-Borges N. et al., 2009). Здатність *PMCA* створювати *de novo* пріони, безумовно виявились значним досягненням (Wang F. et al., 2010). Крім остаточного підтвердження доказів білкового походження пріонних захворювань, він дозволив визначити декілька кофакторів РНК, фосфоліпідів, та деяких інших, які вкрай необхідні для того, щоб відбулась конверсія (Gonzalez-Montalban N. et al., 2013; Deleault N.R. et al., 2012).

*PMCA* використовувався для створення пріонів *in vitro* з використанням *PrP* савців, відомих своєю стійкістю до пріонних хвороб (Makarava N. et al., 2013; Chianini F. et al., 2012; Vidal E. et al., 2012, 2015). *PMCA* навіть з успіхом використали для того, щоб зробити мишей сприйнятливими до пріонів хом'яків і навпаки (Gao C. et al., 2017). Проте, все-таки *PMCA* де дозволяє отримувати пріони зі сталими характеристиками, й часто штами отримані цим способом значно відрізнялись один від одного (Beck K.E. et al., 2013).

Було запропоновано декілька гіпотез про трансконформацію пріонів в інфекційні форми. Перші покоління моделей, ґрунтувались на гіпотезі Прузінера (Cohen F.E., Prusiner S.B., 1998), й вимагали точного відтворення шаблону. Однак ця модель не враховувала

появи варіантних штамів пріонів від одного клонованого пріона. Відповідно, повинен працювати механізм, який дозволяє виникати цьому різноманіттю. Collinge J. and Clarke A.R. в 2007 році запропонували модель, в якій пріони описуються як панель термодинамічно благоприємних конформацій, за яких під час переходу від одного виду тварин до іншого можуть відбиратись різні за характеристиками пріони. Однак і ця гіпотеза не відповідає на всі поставлені питання, особливо ті, які стосуються пріонів збудників *BSE* (Watts, J.C. et al., 2014). Тобто гіпотеза ґрунтується на здатності пріонного інкулята набувати прогресивної шаблонної деформації шляхом ітеративного коректування структури *PrP* господаря під час олігомеризації. Ця гіпотеза також відповідає моделі, запропонованій Makarava N. et al. (2012, 2016), щодо адаптації штамів. Модель пояснює, чому й як відповідний штам адаптований до свого господаря, здатний заражати нового господаря, іноді швидко, а іноді повільно.

Штамові відмінності між пріонами є одною із фундаментальних властивостей пріонів. Останнє пов'язане зі здатністю пріонного білка набувати й відтворювати різні пріонні конформації. Послідовність амінокислот в білку *PrP* визначає набір конформацій, яких він зможе набувати. Якщо набори допустимих конформацій пріона у двох різних видів організмів перетинаються, то може відбуватись подолання міжвидового бар'єра (Hill M. et al., 1997).

Розмножуючись, білки *PrP* з різними конформаціями зумовлюють відмінності в перебігу пріонних захворювань: можливі різні інкубаційні періоди, клінічні прояви, ушкодження різних ділянок мозку. Вперше гіпотезу про різні конформаційні стани пріону було висунуто під час дослідження лабораторних хом'яків, заражених двома штамми губчастої енцефалопатії норок: *HY* і *DY*. Під час введення хом'якам цих двох штамів помітили що вони характеризуються проявом різних інкубаційних періодів і клінічних симптомів захворювання. Після часткового протеолізу *PrP<sup>Sc</sup>* за допомогою протеїнази К, виділеної з мозку хом'яків, заражених штамми *HY* і *DY*, було виявлено, що молекулярна маса протеазостійкого фрагмента пріона *HY* на 2 кДа більше, ніж молекулярна маса відповідного фрагмента пріона *DY* (Bessen R.A., Marsh R.F., 1994). Останнє означало, що у пріонів *HY* і *DY* доступні для протеолізу різні ділянки поліпептидного ланцюга *PrP* і, відповідно, відмінність між штамми характеризується різним просторовим укладанням *PrP<sup>Sc</sup>*. Було також показано, що конформації білка *PrP*, які відповідають штамам *HY* і *DY*, стабільно відтворюються *in vitro* (Bessen R.A. et al., 1995).

Інкубація  $PrP^C$  зі штамми  $HY$  і  $DY$  ( $PrP^{Sc}$ ) призводила до перетворення з двома різними конформаціями, типовими для цих штамів. Аналіз вторинної структури  $PrP^{Sc}$  штамів  $HY$  і  $DY$  виявив, що вони відрізняються за характером  $\beta$ -структур (Caughey V. et al., 1998). Декілька штамів  $PrP^{Sc}$  і відповідних їм фенотипів було ідентифіковано під час хвороби Крейцфельда-Якоба (Collinge J. et al., 1996; Parchi P. et al., 1996).

Штами пріонів стабільно підтримуються *in vivo*. Останнє означає, що якщо заразити лабораторних тварин різними штамми  $PrP^{Sc}$ , то в разі розвитку хвороби в них буде підтримуватися саме той штам пріона, яким їх заразили (Telling G.C. et al., 1996). Згодом з'явилися повідомлення про можливу роль глікозилування  $PrP$  в набутті пріонами штамової специфічності.  $PrP$  – це сіалоглікопротеїн, який має два сайти  $N$ -глікозилування в карбоксикінцевому районі. Поряд із неглікозилуваною формою існують моно- і диглікозилувані форми  $PrP$ . Аналіз значної кількості випадків хвороби Крейцфельда-Якоба людини показав, що штамми пріонів можуть відрізнятися за ступенем глікозилування  $PrP^{Sc}$  (Collinge J. et al., 1996). Проте до цього часу невідомо, яким чином глікозилування впливає на конформацію і патологічні прояви  $PrP^{Sc}$  (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Виникає питання, якщо пріонний білок людини один, то чому він спричинює виникнення різних за симптоматикою й розвитком захворювань (куру, БКЯ, фатальне родинне безсоння тощо) (Laluyants I.E., 2011). Схильність до різних захворювань (або стійкість до них) зумовлена різними мутаціями в гені білка  $PrP$ . Так, деякі мутації призводять до виникнення синдрому Герстмана-Штреуслера-Шейнкера, сімейних випадків хвороби Крейцфельда-Якоба і фатального родинного безсоння. Вчені також звертали увагу на зв'язок певних мутацій пріонного білка з шизофренією. Цим також пояснюються й особливості “лабораторних штамів” пріонів – відмінності в нуклеотидних послідовностях генів у трансгенних мишей дають різнобіччя властивостей їх пріонних білків і відповідно різної клінічної картини захворювань (штамові відмінності пріонів це варіанти конформації скрепі-білка, які визначають конкретне пріонне захворювання)(Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Тут також слід зазначити, що вченими не представлено детального молекулярного механізму, який би розкривав перетворення клітинного пріонного білка в інфекційний, й саме яким чином ново-

му збуднику ідентично передаються властивості штаму, шляхом чого вони зберігаються й утворюють волокна. Так, пріонний білок, який спричинює хворобу Крейцфельда-Якоба, передає здоровому білку варіант конформаційної аномалії, властивий саме цьому захворюванню, а не якомусь іншому (Bogoznyak R.V., 2012).

З точки зору класичної молекулярної біології не дивно, що мутантні пріони, змінюючи конформацію, функціонують інакше й стають причиною хвороби. Але вимагало пояснення перетворення нормального білка в патологічний після попереднього контакту з патологічним. Collinge J. (2010) зазначає що ймовірно, здоровий пріонний білок може сприймати лише обмежену кількість альтернативних патологічних конформацій. В цьому разі набори дозволених конформацій не збігаються у різних видів і навіть у різних особин. Якщо патоген є формою, не властивою цьому білку, зазначений білок він перетворити не зможе, й зараження не відбувається. Здоровий білок під його впливом або не змінить свою конформацію, або створить принципово нову конформацію, яка необов'язково буде спричинювати патологію. Якщо ж нормальний білок в принципі здатний утворити аномальну конформацію, яку пропонує патоген, останнє й відбувається – розвивається зараження.

*Штамові відмінності пріонів у дріжджів.* Як відмічалось у попередніх розділах, штамові відмінності є одною з провідних властивостей пріонів. Феномен варіабельності пріонів проявляється повною мірою й у пріонів дріжджів. Штами пріонів дріжджів здебільшого називають варіантами. Варіанти [PSI+] відрізняються за мітотичною стабільністю й силою супресорного фенотипу (Derkatch I.L. et al., 1996). Варіанти [PSI+], які мають високу мітотичну стабільність, і забезпечують виражену супресію нонсенс мутацій, називають сильними. Варіанти [PSI+] з невисокою мітотичною стабільністю й незначним рівнем супресії називають слабкими. Сила супресорного фенотипу зворотно пропорційна кількості розчинної форми *Sup35* (Kochneva-Pervukhova N.V. et al., 2001; Uptain S.M. et al., 2001; Zhou P. et al., 1999). Кількість розчинного *Sup35* може відрізнятися в декілька разів в клітинах із різними варіантами [PSI+]. Варіанти [PSI+] також відрізняються за розмірами пріонних полімерів (Kryndushkin D.S. et al., 2003).

Сильні варіанти [PSI+], мають незначний розмір полімерів *Sup35*. Різниця в розмірах полімерів *Sup35* між варіантами [PSI+] швидше за все вказує на їх різну схильність до фрагментації. Полімери *Sup35* сильних [PSI+] фрагментуються інтенсивніше ніж



полімери слабких [PSI+], тому розмір полімерів сильних [PSI+] менше, ніж розмір полімерів слабких [PSI+]. Дійсно, інтенсивність елімінації [PSI+] в разі надпродукції *Hsp104* залежить від варіанта пріона, який виганяється. Крім того, в разі надпродукції шаперонів *Ssb1*, *Ssa1* і *Ydj1* спостерігали варіант-специфічне вигнання [PSI+], що підтримується химерним білком, в якому амінокінцевий район *Sup35 S. cerevisiae* був замінений на аналогічний район *Sup35 P. methanolica* (Kushnirov V.V. et al., 2000). Варіанти [PSI+] відрізняються також за здатністю пріонних “ядер” каталізувати перехід розчинного *Sup35* в полімерний стан – агрегати *Sup35* із клітин з сильними [PSI+] індують пріонний перехід розчинного *Sup35* значно більш ефективно, ніж агрегати з клітин зі слабкими [PSI+] (Kochneva-Pervukhova N.V. et al., 2001; Uptain S.M. et al., 2001).

Варіанти [PSI+] стабільно підтримуються *in vivo*. Останнє означає, що вираженість супресорного фенотипу й рівень мітотичної стабільності цього варіанта [PSI+] не змінюється в клітинних поколіннях. Важливу роль в забезпеченні стабільного наслідування варіантів [PSI+] відіграє район *M* білка *Sup35*, оскільки видалення початкової області цього району призводило до появи недиференційованого [PSI+], тобто такого [PSI+], сила супресії й мітотична стабільність якого варіювала від клітини до клітини (Bradley M.E., Liebman S.W., 2004). В спеціальній літературі описаний лише один випадок структурної нестабільності [PSI+], такого що підтримувався повнорозмірним *Sup35*: виникнення сильного варіанта [PSI+] зі слабого (Kochneva-Pervukhova N.V. et al., 2001). Така структурна нестабільність характерна для дуже слабких варіантів [PSI+]. Було показано, що варіанти [PSI+] можуть стабільно підтримуватися *in vitro* (King C.Y., Diaz-Avalos R., 2004).

Полімери химерного білка, який утримує вкорочений *PrD Sup35* (1–61 а.к.) і *GFP (Sup35-1-61-GFP)*, виділені з клітин дріжджів, які утримують три різних варіанти [PSI+] ([VH], [VK], [VL]), в яких одночасно експресувався повнорозмірний *Sup35*, були використані як “затравки” для пріонного переходу очищеного рекомбінантного *Sup35-1-61-GFP*, напрацьованого в *E. coli*. Під час використання пріонних “ядер” [VH], [VK] і [VL] *in vitro* були отримані фібрили, які потім використовували для трансформації (зараження) дріжджових клітин [*psi*-]. Останнє призвело до появи колоній [PSI+] з трьома фенотипами, які відповідають початковим варіантам. Експеримент також продемонстрував, що ділянка пріонного домена *Sup35* з 1 по 61 а.з. достатня для підтримання відмінностей властивостей пріона



*Sup35 in vitro*. Ймовірно, варіанти [*PSI+*] становлять собою різні стабільно підтримувані пріонні конформації *Sup35*. На користь цього твердження свідчать наступні експериментальні відомості.

Амілоїдні фібрили, спонтанно утворені фрагментом *NM* білка *Sup35 in vitro*, становлять собою структури, які відрізняються швидкістю й полярністю росту. Амілоїдні фібрили, які формуються *Sup35NM in vitro*, здатні рости в двох напрямках, однак швидкість росту фібрил в різних напрямках неоднакова (DePace A.H., Weissman J.S., 2002). Крім того, амілоїдні фібрили, які утворюються за різних температур (4 °C і 37 °C), мають різну термостабільність у присутності *SDS* й стійкість до протеолізу (Tanaka M. et al., 2004). За допомогою ЕПР-спектроскопії (електронний парамагнітний резонанс) отримані відомості про різну структуру фібрил *Sup35NM*, утворених за різних температур (Tanaka M. et al., 2004). Аналіз таких фібрил *Sup35NM*, який проводився за допомогою флуоресцентної мітки, показав, що молекули *Sup35NM*, які складають фібрили, утворені за 25 °C або 37 °C, мають більш довгу ділянку амінокінцевої області, утягнуту в пріонну укладку, ніж молекули *Sup35NM*, які входять до складу фібрил, утворених за температури 4 °C (Krishnan R., Lindquist S.L., 2005). Розроблений метод трансформації клітин [*psi-*] в стані [*PSI+*] за допомогою амілоїдних фібрил, отриманих *in vitro* (King C.Y., Diaz-Avalos R., 2004; Tanaka M. et al., 2004), дозволив продемонструвати, що інфікування клітин амілоїдами, утвореними за температури 4 °C, призводить до виникнення переважно сильних варіантів [*PSI+*], а інфікування клітин амілоїдами, утвореними за 25 °C або 37 °C призводить до виникнення переважно слабких варіантів [*PSI+*] (Tanaka M. et al., 2004). Таким чином, було показано, що різноманіття варіантів [*PSI+*] зумовлене конформаційними відмінностями їх пріонних полімерів (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

*Структура амілоїдних фібрил*. Фібрили, які утворюються білками *Sup35*, *Ure2*, *HET-s* або їх пріонними доменами *in vitro*, подібні за структурою з амілоїдами, утягнутими в патогенез захворювань людини. Донині описано близько 20 білків людини, здатних утворювати амілоїди *in vivo* (Selkoe D.J., 2003), наприклад, інсулін, фрагменти легких ланцюгів імуноглобулінів,  $\alpha$ -синуклеїн, *A $\beta$* -пептид і білок *PrP*. Амілоїдні фібрили взаємодіють з тіофлавіном *T* і конго червоним (Elghetany M.T., Saleem A., 1988) й стійкі до обробки детергентом *SDS* за кімнатної температури (Serio T.R. et al., 2000).

Крім того, амілоїдні фібрили незалежно від того, яким білком вони сформовані, мають подібну структуру: утворені  $\beta$ -шарами, розміщеними перпендикулярно до осі фібрили, а водневі зв'язки, які поєднують поліпептидні ланцюги, орієнтовані вздовж осі фібрили (Sunde M., Blake C., 1997). Здатність білків формувати амілоїди залежить від їх заряду й гідрофобності (Chiti F. et al., 2003) і, ймовірно, є загальною характеристикою поліпептидних ланцюгів, оскільки *in vitro* в умовах часткової денатурації багато пептидів і білків утворюють подібні структури. Однак такі умови суттєво відрізняються від фізіологічних (Dobson C.M., 1999, 2001).

Атомарна структура амілоїдних фібрил, у тому числі фібрил, утворених *Sup35*, невідома. Картина рентгеновської дифракції фібрил, утворених глутамін-аспарагін-багатим пептидом пріонного домена *Sup35*, полі-*L*-глутаміном, а також фрагментом хантінгтину (Perutz M.F. et al., 2002), дозволила сформулювати модель побудови амілоїдної фібрили (Perutz M.F. et al., 2002). Згідно з цією моделлю, амілоїдна фібрила складається з декількох переплетених протофібрил. Амілоїдна протофібрила становить собою циліндричний  $\beta$ -шар – порожнисту нанотрубочку з діаметром 3 нм, в якій поліпептидний ланцюг “накручений” навколо осі фібрили й формує спіраль. Один виток такої спіралі містить 20 амінокислот поліпептидного ланцюга, витки взаємодіють між собою водневими зв'язками між амідами основного й бічних ланцюгів (кожен *CO* попереднього витка взаємодіє з *NH* наступного витка). Положення бокових ланцюгів амінокислот кожного витка чергуються: сусідні бокові ланцюги розміщуються по різні боки від основного ланцюга (направлені всередину спіралі й назовні). Що стосується нанотрубочки, утвореної *Sup35*, домен *C* білка в формуванні цієї структури участі не бере, а “звішується” з неї. Один виток такої спіралі нестабільний, адже він стабілізується внаслідок взаємодії з наступним витком. Таким чином, мінімальна кількість витків, які утворюють стабільну структуру, дорівнює двом, тобто 40 амінокислот складають мінімальний амілоїдоутворюючий фрагмент. Картина отриманої рентгеновської дифракції фібрил, утворених фрагментами білка *Sup35* (*Sup35NM* і *Sup35N*), свідчить на користь цієї моделі (Kishimoto A. et al., 2004).

Не так давно було показано, що мономери *Sup35NM*, які складають протофібрилу, орієнтовані відносно одне одного таким чином, що міжмолекулярні водневі зв'язки утворюються між однаковими ділянками цих молекул (Krishnan R., Lindquist S.L., 2005). Таким

чином, *Sup35NM* розміщені відносно одне одного в орієнтації: “голова” (з 25 по 38 а.к.) до “голови” і “хвоста” (з 91 по 106 а.к.) до “хвоста”. Інша модель амілоїдної протофібрили була запропонована для білка *Ure2* (Kajava A.V. et al., 2004), однак, ймовірно її можна застосувати й до *Sup35*. Структуру, яку розглядали у цій моделі було названо  $\beta$ -серпантинном. Згідно з цією моделлю, пріонний домен одної молекули *Ure2* (або *Sup35*) утворює суперскладчасту  $\beta$ -структуру – серпантин. Серпантини *Ure2* або *Sup35* розміщені стовпчиком паралельно один одному з незначним зрушенням (приблизно в  $1^\circ$ ) й стабілізовані між- і внутрішньомолекулярними водневими зв’язками. С-домени цих білків не беруть участі в суперскладчастій структурі й розміщуються спірально навколо серпантину (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan, M.D., 2006, 2007).

## РОЗПОВСЮДЖЕНІСТЬ ПРІОНІВ У ПРИРОДІ

Загальними властивостями амінокислотних послідовностей всіх відомих донині пріонних білків *S. cerevisiae* є високий вміст аспарагінових і глутамінових решток. Такими властивостями також володіють амілоїдогенні послідовності білків людини, таких як хантінгтин і *APP* (*Amyloid  $\beta$  Precursor Protein*). Було показано, що багаті на глутамін послідовності схильні формувати амілоїдні фібрили *in vitro* (Perutz M.F. et al., 1994), що вказувало на можливість передбачення пріонних властивостей білків на основі їх збагачення глутаміновими і аспарагіновими амінокислотними залишками. Як критерій для ідентифікації таких білків використовувалась наявність 30 решток глутаміну або аспарагіну протягом безперервної послідовності амінокислотних залишків (Michelitsch M.D., Weissman J.S., 2000).

Аналіз того, настільки часто зустрічається багаті на глутамін-аспарагін послідовності у різних видів організмів показав, що в геномі *S. cerevisiae* 1,69 % ВРЗ (відкриті рамки зчитування) кодують такі білки (107 білків). У *Drosophila melanogaster* було виявлено 472 подібних білка, що відповідає 3,47 % всіх ВРЗ. Беручи до уваги розповсюдженість багатих на глутамін-аспарагін послідовностей, можна передбачити, що пріони не є екзотичними в природі. Однак необхідно зазначити, що не всі пріоноутворюючі послідовності багаті на аспарагін і глутамін. Наприклад, до них не належать пріонні домени білків *PrP* і *HET-s*. Таким чином, поки не існує надійного критерія оцінки здатності поліпептидних послідовностей

до пріоноутворення, й останнє суттєвим чином утруднює прогнозування білків з пріонними властивостями (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Не так давно з'явилися відомості про цитоплазматично успадковані фенотипи, які, можливо, залежать від наявності пріонних детермінант у дріжджів. Нині проводиться активний пошук пріонних білків, які зумовлюють такі ознаки. Серед них детермінанти [ISP+] і [GAR+] *S. cerevisiae* і детермінанта [cif] *Schizosaccha romyces pombe*. Детермінанта [ISP+] *S. cerevisiae* (яка успадковується нехромосомним шляхом) була виявлена на фоні двох супресорних мутацій в 3'-кінцевій ділянці гена *SUP35* (Volkov K.V. et al. 2002). Відносно цих мутацій [ISP+] проявляє властивості антисупресора ([ISP+] – *Inversion of Suppressor Phenotype*). Проте [ISP+] не залежить від пріонного домена *Sup35* і, можливо, він становить собою пріонну форму невідомого білка, який взаємодіє з *Sup35*. [ISP+] має домінуючий прояв, який успадковується за цитоплазматичним типом і у зворотному напрямі “виліковується” за допомогою ГХГ, однак на відміну від [ISP+] його підтримання не залежить від шаперона *Hsp104*. Клітини дріжджів *S. cerevisiae* здатні спонтанно набувати фенотипу [GAR+] – власне стійкість до негідролізованого аналогу глюкози – *D-(+)-*глюкозаміну (Brown J.C., Lindquist S.L., 2005; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2007).

Ознака [GAR+] проявляє генетичні властивості пріонів дріжджів. Ця ознака успадковується цитоплазматично, й передається за допомогою цитодукції, й зникає у штамів з делеціями шаперонів *Ssa1* і *Ssa2* із родини *Hsp70*. Білок, пріонні властивості якого, можливо, визначає фенотип [GAR+], поки не виявлений. Пріоноподібна детермінанта [cif] (*calnexin independence factor*) дріжджів *S. pombe* забезпечує життєздатність клітин за відсутності калнексину (білка *Cnx1*) – життєво важливого шаперона ендоплазматичного ретикулуму. Фенотип *Cin* (*Calnexin independence*) успадковується домінують й передається в мейозі більшості нащадків. Він також передається за допомогою трансформації клітинними екстрактами, позбавленими нуклеїнових кислот (Collin P. et al., 2004). Разом із тим, обробка екстрактів клітин з фенотипом *Cin* протеїназою *K* суттєво знижувала ефективність передачі *Cin* стану, що свідчило на користь білкового походження фактора незалежності від калнексину [cif]. Було ідентифіковано ген *cif1*, експресія якого в мультикопійному стані проковує незалежність від калнексину. Продукт цього гену назвали фактором незалежності

від калнексину – *Cif1* (Beauregard P.B. et al., 2005). Білок *Cif1* утворює фібрилярні агрегати *in vitro*, зараження якими калнексин-залежних клітин, провокує (індукує) *Cin* фенотип. Таким чином, були отримані факти, які свідчили на користь того, що білок *Cif1*, функція якого в клітині поки не з'ясована, є пріоном (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Отже, відкриття пріонів у дріжджів і *P. anserina* розширило уяву про пріони. Виявилось, що пріони є не лише інфекційними агентами, але становлять собою загальнобіологічне явище. У нижчих еукаріотів феномен пріонів лежить в основі епігенетичної спадковості й регуляції експресії генів на посттрансляційному рівні. Наявність або відсутність детермінанти [*PSI+*] у дріжджів *S. cerevisiae* може забезпечувати адаптивні переваги в умовах мінливого середовища, наприклад, наявність [*PSI+*] інгібує зростання у присутності деяких джерел азота у одних штамів, але дозволяє клітинам інших штамів рости на галактозі (True H.L., Lindquist S.L., 2000). Крім того, наявність пріона [*PSI+*] підвищує стійкість клітин до теплового шоку (Eaglestone S.S. et al., 1999).

Пріонний механізм має потенційно корисні відмінності порівняно з механізмами генетичної мінливості. Перехід білків до пріонного стану може відбуватись із більшою частотою, ніж виникнення мутацій, причому ступінь вираженості пріонного фенотипу може залежати від варіанта пріона. Зворотний перехід із пріонного стану до непріонного також відбувається частіше, ніж реверсії шляхом мутацій, оскільки клітини з пріонним фенотипом зберігають інформацію про висхідний стан білка. Це особливо важливо для адаптивної лабільності популяції, коли у відповідь на зміну умов навколишнього середовища, швидше за все, потрібна тимчасова корекція фенотипа, ніж постійна його зміна (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

Беручи до уваги розповсюдженість і значущість пріонів у нижчих еукаріотів, можна передбачити, що й у вищих організмів пріони можуть не лише бути причиною хвороб, але й виконувати фізіологічні функції. Було виявлено, що *PrP*, ймовірно, не єдиний білок вищих еукаріотів, який має пріонні властивості. Так, були продемонстровані пріоноподібні властивості нейрональної ізоформи білка *CPEB* (*cytoplasmic polyadenilation element binding protein*) равліка *Aplysia californica* (Si K. et al., 2003).

*CPEB* – це трансляційний регулятор, який стимулює поліаденілювання цитоплазматичних мРНК і таким чином активує їх транс-

ляцію. Процес поліаденілювання мРНК запускається зв'язуванням *CPEB* з *CPE* (*cytoplasmic polyadenylation element*), які розміщені в 3'-UTR (3'-нетрансльований район) мРНК що активується. Пріоноподібні властивості *CPEB* були виявлені під час гетерологічної експресії цього білка в клітинах дріжджів, адже дріжджі *S. cerevisiae* становлять собою зручну генетичну систему для перевірки пріонних властивостей білків. Амінокінцевий район *CPEB* містить значну частину глутаміну й аспарагіну (48 %), що й дозволило передбачати його здатність до пріонізації. Було показано, що *CPEB* може існувати в двох станах – нативному й агрегованому, причому саме в агрегованому стані *CPEB* здатний зв'язуватися з сигнальною послідовністю *CPE* і, тим самим, активувати трансляцію “німої” мРНК. Агрегований активний стан *CPEB* успадковується домінантно й передається з цитоплазмою. Рівень *CPEB* зростає в декілька разів у присутності серотоніну – медіатора, який бере участь в синаптичній пластичності, яка залучена в процесах навчання й пам'яті (Si K. et al., 2003). Була також запропонована модель, згідно з якою збільшення рівня експресії нейрональної форми *CPEB* сприяє її переходу до пріонного стану під впливом серотонінового стимулу (Si K. et al., 2003). Таким чином, в результаті синаптичної стимуляції, яка супроводжується мультимеризацією *CPEB*, може локально активізуватися трансляція “німих” мРНК. Механізм передачі сигналу, який включає пріонний перехід, має перевагу, оскільки, як тільки пріонного стану буде досягнуто, він сам буде підтримуватися без додаткової стимуляції, забезпечуючи можливість “зберігання” інформації імпульсу, який надійшов. Однак пріонні властивості *CPEB* в нейронах *A. californica* ще не були продемонстровані. Чотири гомологи гена *CPEB* були виявлені в геномі мишей (Theis M. et al., 2003). Продукт одного з цих генів *CPEB-3* має амінокінцевий глутамін-багатий домен, продукт іншого *CPEB-4* несе пролін-багатий домен на *N*-кінці, й обидва білки здатні агрегувати в разі експресії в дріжджових клітинах і в культурі нейронів (Allen K.D. et al., 2005).

Можливо, з часом буде доведено існування пріонів ссавців, які утягнуті в процеси навчання й пам'яті. Першопочатково пріони були відкриті як інфекційні агенти нового типу. Нині вже відсутні сумніви стосовно того, що вони є феноменом загальнобіологічного значення й, швидше за все, є носіями біологічної інформації нового типу, інформації, яка зберігається в конформації білка (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

## ГЕНЕТИЧНІ МУТАЦІЇ У ПРИОНІВ

Нині пріонні хвороби лікуванню не піддаються. Навіть теоретично тяжко уявити собі спосіб лікування, який міг би завадити білкам тваринного походження перетворювати конформаційну структуру на “заразну”. Проте, як виявилось, деякі генетичні мутації майже гарантують стійкість до пріонних хвороб. Одну з таких корисних мутацій виявили у аборигенів Нової Гвінеї, де внаслідок ритуального канібалізму була доволі розповсюдженою пріонна хвороба Куру. Декілька років тому вчені проаналізували генетичні варіанти трьох тисяч аборигенів і прослідкували долю цих людей (Mead S. et al., 2009). З’ясувалось, що заміна всього лише одної амінокислоти в людському пріонному білку (гліцину в 127-му положенні на валін – *G127V*) різко знижує ймовірність захворіти і загинути від Куру. У жодної людини, яка загинула від цієї інфекції, “захисного” генетичного варіанту не виявлено. Й навпаки, у членів родин, в яких рееструвався такий генетичний варіант, нечасто реестрували Куру.

Відома й інша корисна мутація, яка знижує ймовірність захворіти на пріонне захворювання, – *M129V* – заміна метіоніну на валін в 129-му положенні амінокислотної послідовності пріонного білка (*PrP*). Така мутація рееструється у людей в усьому світі. Відомо, що вона захищає людей лише в гетерозиготному стані – якщо на одній хромосомі у індивіда є звичайний варіант гена, а на іншій – мутований. В цьому разі частина молекул білка, який утворюється має стандартну послідовність, а частина – модифіковану. Вчені вважають, що в такій ситуації агрегатам пріонного білка складніше утворюватися: молекулам двох видів, дещо відмінних одна від одної, складніше злипатись. З’ясувалось, що мутація *G127V* також рееструвалась у аборигенів Нової Гвінеї в гетерозиготному стані. Дослідники вирішили з’ясувати, чи захищає “мутація аборигенів” від пріонних хвороб за таким же принципом, як і “загальнолюдська” – в позиції 129 (Asante E.A. et al., 2015; Telling G., 2015).

З цією метою вчені отримали мишей, в яких ген мишачого пріонного білка було замінено на людський. В цьому разі мишачих ліній було декілька, й усі вони мали різне співвідношення алелей – в 127-й (“аборигенська”) і в 129-й (“загальносвітова”) позиціях *PrP* могли бути як звичайні амінокислоти, так і варіанти, які виникли із-за мутацій. Таких мишей вчені заражали різними пріонами й спостерігали, яка комбінація генетичних варіантів дає кращий захист

від пріонних хвороб. Як з'ясувалось “аборигенська” мутація ефективніше “загальносвітової”, адже якщо у миші була хоча б одна копія алеля з “аборигенською” мутацією, це надавало їй імунітет до більшості пріонних хвороб. Навіть якщо в 129-му положенні у миші була невідгідна комбінація алелей (тобто вони були ідентичними), “аборигенська” мутація добре допомагала. Однак не абсолютно.

З двома новими пріонними штамами (збудники нового варіанта хвороби Крейцфельда-Якоба), з якими аборигени Нової Гвінеї ніколи не стикались, єдина копія мутантного гена не справлялась. Більша частина мишей, у яких заміна *G127V* в *PrP* визначалась одним мутантним алелем, захворіли. Цікаво, що частка захворілих мишей одної й тієї ж лінії залежала від того, в якому співвідношенні напруцьовувались у них стандартний і “аборигенський” варіанти білка. Чим більшою була частка останнього, тим менший процент мишей хворів. Виявилось, що двох копій пріонного гена з мутантним 127-м кодоном виявилось достатньо, щоб повністю захиститися від усіх використаних в експерименті штамів пріонів. Останнє говорить про те, що “аборигенська” мутація працює не так, як “загальносвітова”.

“Загальносвітова” мутація корисна лише в єдиній копії, тоді у її носія утворюються два різних варіанти білка, які гірше утворюють агрегати. Навпаки “аборигенська” мутація працює навіть краще, якщо присутня в двох алелях. Виходить, механізм дії мутації ґрунтується не на тому, що двом різним формам білка важче злипатися, а швидше за все пояснюється тим що “аборигенська” мутація ускладнює перехід *PrP* до “заразного” стану, й ланцюгова реакція зміни конформації не запускається. Залишається лише зрозуміти, чому єдина амінокислотна заміна заважає пріонному білку набувати конформації, схильної до агрегації. Однак як застосувати такі отримані знання на практиці незрозуміло. Хіба що спроектувати для наших домашніх тварин білки, стійкі до переходу в “заразний” стан, і отримати генетично модифіковані породи, захищені від пріонних хвороб (Kondratenko Yu., 2015).

Властивості штамів пріонів, як вважають, зашифровані в конформації родинного *PrP<sup>Sc</sup>* (Prusiner S.B., 1991). Дійсно, окремі штами часто пов'язані з видами *PrP<sup>Sc</sup>* й відрізняються за фізико-хімічними властивостями.

Експерименти зі штамами пріонів дріжджів показали, що певні конформації можуть розмножуватися *in vitro* чистими, неглікозильованими білками (Tanaka M. et al., 2006; Weissmann C., 2012). Однак, беручи до уваги значну кількість пріонних штамів ссавців



та їх тропізм до конкретних клітинних ліній, можна зазначити, що посттрансляційні модифікації *PrP*, такі як глікозилювання або асоціація з деякими клітинними компонентами, можуть сприяти певним конформаціям *PrP* і, відповідно, пояснювати переважне клітинно-специфічне розмноження окремих штамів.

Як уже зазначалось, в цілому існує значний бар'єр для передачі пріонів між різними видами тварин, оскільки навіть масивне внутрішньомозкове трансидове зараження спричинює хворобу лише з низькою частотою (низька “швидкість атаки”) і / або лише після тривалого інкубаційного періоду, або захворювання взагалі не виникає. Такий бар'єр вдається подолати в окремих випадках шляхом заміни гена *PrP* реципієнта на його аналог від донора, але очевидно, що фактори, відмінні від розбіжностей послідовностей *PrP*, забезпечують несумісність. Важливо вказати, що коли пріони серійно передаються від перших трансидових реципієнтів іншим тваринам того ж виду, частота атак збільшується, а час інкубації зменшується, що відбиває “адаптацію” до нового господаря (Kimberlin R.H., Walker C., 1977). “Адаптація” передбачає перший крок нарощування *PrP<sup>C</sup>* від господаря-реципієнта до патогенних *PrP<sup>Sc</sup>*, які надходять в організм, адже спектр конформацій у них практично несумісний. Ефективність розмноження реалізується лише тоді, коли конформація змінюється й буде більш-менш збігатися з тим, що має реципієнт, тобто будуть відбуватись “мутаційні” зміни на конформаційному рівні (Li J. et al., 2011). З часом пріони можуть еволюціонувати для більш швидкого розмноження в новому господарі, що пояснює різке скорочення їх інкубаційного періоду, оскільки вони послідовно переносяться у межах нового виду. В деяких випадках передача штаму пріонів від одного виду до іншого, йде шляхом подальшого пасажування у висхідному виді господарів, що й призводить до появи мутантних штамів. Наприклад, коли клоновані мишачі пріони 139A пасажували через хом'яка й згодом повторно пасажували на мишах, було отримано новий штам 139A-Н2М; однак деякі штами не змінювались (ME7)(Kimberlin R.H. et al., 1989).

Виявлення того факту, що багато штамів пріонів мишей ефективно реплікуються в вибраних лініях мишачих клітин, відкрило нові важливі експериментальні можливості. Зокрема, повільний, дорогий і неточний біоаналіз на мишачі пріони може бути замінений гуманною, швидкою й точною процедурою використання клітин (Klöhn P-C. et al., 2003).

Диференційна сприйнятливність клітинних ліній до різних штамів пріонів була покладена в основу аналізу клітинної панелі (CPA), який дозволяє швидко диференціювати різні штами пріонів на основі їх клітинного тропізму й їх чутливості до різних лікарських засобів, таких як сваїнсонін або кіфуненсін (Mahal S.P. et al., 2007; Browning S. et al., 2011). Метод CPA показав, що послідовне розмноження отриманих з мозку пріонів штаму 22L в клітинах PK1 призводить до прогресивних змін їх властивостей; адже ці штами першопочатково могли розмножуватися в клітинах R33 (“R33-компетентні”) або в клітинах PK1 у присутності сваїнсоніну (“стійкі до сваїнсоніну”), пріони поступово ставали повністю некомпетентними до R33 й чутливими до сваїнсоніну. Коли ці “адаптовані до клітин” пріони були знову введені в мозок мишей, вони поступово знову набули своїх попередніх властивостей й їх не можна було диференціювати від висхідного штаму 22L. Аналогічним чином, коли чутливі до сваїнсоніну пріони розмножувались в клітинах PK1 за присутності лікарських речовин, після декількох пасажів з’являлась популяція стійких до сваїнсоніну пріонів, що свідчить про адаптацію до нового середовища. Після того коли скасовували такі препарати, й подальшого розмноження пріонів, знов в їх популяції з’являлись пріони чутливі до цих препаратів (Li J. et al., 2010). Такі результати досліджень свідчать про те, що популяцію пріонів складають, так звані, квазівиди (Eigen M., 1971), тобто вони складаються зі значної кількості конформаційних варіантів, кожен із яких присутній на низькому рівні; коли середовище змінюється, варіанти які найбільш ефективно реплікувались стають такими компонентами популяції що переважають, й яка потім складає окремий субштам (Eigen M., 1971; Collinge J., Clarke A.R., 2007; Weissmann C. et al., 2011). Дійсно, було виявлено, що адаптовані до клітин PK1 популяції пріонів 22L містять близько 0,5% варіантів, стійких до сваїнсоніну, ще до того, як вони були піддані дії препарату (Li J. et al., 2010). Оскільки пріони 22L, використані в цих експериментах, були клоновані за допомогою кінцевих розведень декількома роками раніше, гетерогенність повинна була виникнути в результаті процесу, подібного до мутацій. Мутації в разі пріонів становлять собою конформаційні зміни, а не модифікації на рівні білкової послідовності, оскільки PrP кодується геномом господаря, а мутація притаманна білковій частці. Щоб перевірити, чи виникла гетерогенність пріонних популяцій в результаті мутації, чутливі до сваїнсоніну пріони були клоновані кінцевим розведенням в клітинах PK1, й інфіковані клітини були

послідовно розмножені до 100 подвоєнь і оброблені свайнсоніном, щоб визначити, на якій стадії популяції пріонів вони набули здатності ставати стійкими до препарату. Одразу після клонування популяції були нездатні до цього, але більшість клонів розвили цю здатність після 31–86 подвоєнь. Однак приблизно одна із дев'яти популяцій не мала таких властивостей навіть після 116 подвоєнь, і це дозволяє припустити, що пріони були гетерогенними відносно їх здатності розвивати стійкість до свайнсоніну (Li J. et al., 2010, 2011). Про набуття пріонами мишей стійкості до ліків повідомляли Ghaemmaghami S. et al. (2009) й пріонами дріжджів Shorter J. (2010). Більшість, якщо не всі варіанти або субштами пріонів, описані вище, мали властивості повертання висхідних характеристик, що дозволяє припустити, що в основі конформації лежать властивості легкого взаємоперетворення. Навпаки, штами є доволі стабільними до того часу, поки вони розмножуються в одному й тому ж виді тварин. Відкриття того факту, що пріони можуть набувати стійкості до ліків, має велике значення в розробці останніх. Ліки, націлені на  $PrP^{Sc}$ , ймовірно, будуть вводиться у різні комбінації препаратів, як і в випадку з вірусами (зокрема вірусу імунodefіциту людини). Як альтернатива, ліки можуть бути націлені на зв'язування й стабілізацію  $PrP^C$  або, з урахуванням відкриття, що видалення  $PrP^C$ , в усякому разі, у тварин, не шкодить їх здоров'ю під час придушення синтезу патогенного пріону (Büeler H. et al., 1993; Richt J.A. et al., 2007).

## ЛІКУВАННЯ ПРІОННИХ ХВОРОБ

Нині пріонні хвороби вважаються невиліковними, однак підходи до їх лікування активно розробляються (Béringue V. et al., 2012). Губчасті енцефалопатії характеризуються відсутністю імунної відповіді на пріонну інфекцію. Останнє пов'язане з тим, що фізіологічна форма  $PrP$  завжди присутня в організмі, й у тому числі в  $T$ - і  $B$ -лімфоцитах. Однак *in vitro* було показано, що антитіла до декількох епітопів  $PrP$  інгібують розмноження  $PrP^{Sc}$  (Enari M. et al., 2001; Peretz D. et al., 2001). Вакцинація рекомбінантним  $PrP$  перед або одразу після інфекції й пасивна імунізація антитілами до деяких епітопів  $PrP$  призводила до інгібування реплікації пріона й відстрочення розвитку хвороби (Sigurdsson E.M. et al., 2003; White A.R. et al., 2003). Ці експерименти підтвердили ефективність втручання в роботу імунної системи під час лікування пріонних захворювань.

Іншою стратегією в лікуванні було використання сполук з низькою молекулярною масою. Сполуки, які проходять клінічні дослідження як можливі засоби лікування пріонних хвороб, включають гетероциклічні сполуки, наприклад різні трициклічні похідні акридину і фенотіазину, зокрема хінакрин і хлорпромазин (Korth C. et al., 2001, 2006). Було показано, що такі методи лікування ефективні для придушення утворення  $PrP^{Sc}$  із  $PrP^C$  в клітинах лінії *ScN2a* (нейробластома людини)(Korth C. et al., 2001; Doh-Ura K. et al., 2000). Ці хімічні речовини використовувались в клінічній практиці протягом багатьох років, хінакрин як протималарійний препарат і хлорпромазин як антипсихотипний препарат, й обидва вони здатні долати гематоенцефалітний бар'єр. Тому застосування цих хімічних сполук вважається привабливим варіантом під час лікування пріонних захворювань (Korth C. et al., 2001; Barrett, A. et al., 2003). На початку застосування цих препаратів були отримані обнадійливі результати, особливо в разі збільшення доз, проте в цілому дослідження показали, що хінакрин і хлорпромазин, окремо або в комбінації не мають терапевтичної антипріонної дії (Caroline J. et al., 2016).

Розмноження  $PrP^{Sc}$  може бути зупинене за допомогою “блокаторів  $\beta$ -структур” – пептидів, збагачених проліном та таких, що мають гомологію з  $PrP^C$  (Soto C. et al., 2000). Існує й інший підхід, який ґрунтується на поліморфізмі гена *Prnp*. Відомо, що заміни Q171R в білку *PrP* овець і E219K в *PrP* людини несумісні з утворенням пріонної форми  $PrP^{Sc}$ . Мутації, які призводять до цих амінокислотних заміन в *PrP* овець і людини, були введені в ген *Prnp* миші (Kaneko K. et al. 1997). Відповідні рекомбінантні мутантні білки мишей не переходили в патологічну ізоформу *PrP*, а також інгібували формування  $PrP^{Sc}$  в клітинних культурах дикого типу (Kaneko K. et al. 1997). Ці мутації мали домінантно-негативний прояв, оскільки попереджали перехід нормального білка *PrP* миші до пріонного стану. З метою використання домінантно-негативних мутантів *PrP* в генотерапії пріонних захворювань, були розроблені лентивірусні вектори для доставлення кодуючої їх ДНК *in vivo*. В мишачих культурах нейронів було показано, що трансдукція клітин лентивірусними віріонами, які містили описані вище мутантні алелі *Prnp*, призводить до значного зниження рівнів  $PrP^{Sc}$  (Crozet C. et al., 2004).

На жаль, варіантів лікування пріонних захворювань обмаль, однак все-таки було запропоновано декілька стратегій. Зниження рівнів  $PrP^C$  практично видаляє субстрат для перетворення в  $PrP^{Sc}$  (Safar J.G. et al., 2005; White M.D. et al., 2008), але збільшення кіль-

кості корисних характеристик  $PrP^C$ , які відкриті останнім часом знижують ефективність такого підходу. Інший метод – запобігти перетворенню  $PrP^C$  в  $PrP^{Sc}$  або стабілізацією  $PrP^C$ , або інгібуванням процесу перетворення (Kawasaki Y. et al., 2007). Останній підхід виявився найбільш популярним, оскільки він здійснювався із втручанням малих молекул або лікувальних антитіл, зберігаючи в цьому разі функцію  $PrP^C$  (Trevitt C.R., Collinge J., 2006; Sim V.L., Caughey B., 2009). Третій метод – прискорення виведення  $PrP^{Sc}$  з мозку (Supattarone S. et al., 1999). Такий підхід ґрунтується на тому, щоб націлити низхідні ефекти реплікації пріонів шляхом інгібування таких процесів, як  $UPR$ . Методика виявилась доволі ефективною, оскільки притаманна пріонам конверсія й агрегація не залучаються, проте ефективний нейрозахист спостерігається (Halliday M. et al., 2015, 2017; Moreno J.A. et al., 2013). Ефективність інгібіторів  $UPR$  знову показує складний взаємозв'язок між  $PrP^{Sc}$  і нейротоксичністю (Hughes D., Halliday M., 2017).

Дріжджі є зручною моделлю для пошуку й вивчення факторів, здатних звільняти (виліковувати) клітини від пріонів.  $PrP$  ссавців в разі експресії в клітинах дріжджів, ймовірно, має тенденцію до переходу в пріонну форму, оскільки накопичується в агрегованій і протеазостійкій формі (Ma J., Lindquist S., 1999; Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007). Дріжджі, які містять пріон  $PrP^{Sc}$ , можуть також бути використані для пошуку лікарських препаратів з протипріонними властивостями. Дріжджі були використані для пошуку хімічних сполук, які “виганяють” пріони [ $PSI+$ ] і [ $URE3$ ]. На здатність елімінувати [ $PSI+$ ] було перевірено більш як 2500 хімічних сполук. Клітини ссавців не містять шаперону  $Hsp104$ . Тому, для того, щоб виявити хімічні сполуки, активні відносно пріонів ссавців, пошук антипріонних сполук у дріжджів проводили за умов зниженої активності  $Hsp104$ . В результаті дослідів було виявлено шість сполук, які елімінували [ $PSI+$ ]. П'ять належали до нового класу молекул – кастелопаолітинів, шостою сполукою був фенантридин. Всі ці сполуки елімінували (“виганяли”) [ $URE3$ ], а також інгібували утворення  $PrP^{Sc}$  в культурі клітин нейробластоми мишей (Bach S. et al., 2003). Дві інші сполуки, антипріонна активність яких була показана раніше в культурі клітин ссавців, а саме, кінакрин (використовується як засіб від малярії) і хлорпромазин (використовується як антипсихотичний засіб), виліковували дріжджові клітини від [ $PSI+$ ] і [ $URE3$ ]. Слід зазначити, що всі ці сполуки активні лише в клітинах, які діляться, й для елімінації пріонів потрібна присутність цих аген-

тів протягом кількох поколінь клітин. Фенантридин, кастелопаолітини, кінакрин і хлорпромазин, ймовірно, діють не на пріонні агрегати, а на механізми, які підтримують пріонний стан білків. Останнє означає, що механізми, які контролюють підтримання пріонів у ссавців і дріжджів, імовірно мають загальні риси. Проведені дослідження показали ефективність й обґрунтованість використання дріжджової моделі для пошуку агентів, які елімінують пріони в організмі ссавців (Shkundina I.S., Ter-Avanesyan M.D., 2006, 2007).

## ВАРІАБЕЛЬНА ПРОТЕАЗО-ЧУТЛИВА ПРІОНОПАТІЯ

Варіабельна протеазо-чутлива пріонопатія (*Variably protease-sensitive prionopathy; VPSPr*) – пріонна хвороба, пов’язана з діареєю й автономною нейропатією, є спадковою й проявляється симптомами ураження вегетативної нервової системи.

**Історична довідка.** Мало розповсюджене, описане вперше в США у 2008 р. захворювання. Виявляють 2–3 випадки на 100 млн населення (Gambetti P. et al., 2008, 2011; Zou W.Q. et al., 2010). Нині зареєстровано 37 випадків *VPSPr*, що відповідає оцінкам поширеності 0,7–1,7% усіх спорадичних пріонних захворювань. Відсутність генних мутацій визначає *VPSPr* як спорадичну форму пріонних захворювань людини, поряд зі спорадичною хворобою Крейцфельда-Якоба (*sCJD*) та спорадичною формою фатального родинного безсоння (*sFD*) (Notari S. et al., 2018).

**Збудник.** *PrP<sup>Sc</sup>* менш стійкий до розщеплення протеазами, причому в деяких випадках чутливість до дії протеаз є більшою, ніж в інших, що й знайшло відбиток в назві хвороби “варіабельна протеазо-чутлива”.

Аномальний *PrP*, пов’язаний з *VPSPr*, зазвичай утворює електрофоретичний профіль із п’яти-семи смуг (відповідно до антитіла), що мають різну резистентність до протеази залежно від генотипу 129.

*PrP<sup>Sc</sup>* в мозку за *VPSPr* відносно слабо стійкий до перетравлення протеїназою *K*. Іноді у вестерн-блотингу урізані *C*-кінцеві смуги *PrP<sup>res</sup>* 8 кДа характеризуються слабкою драбинкою смуг, що простягаються в діапазоні 18–30 кДа (Ritchie D.L., Ironside J. W., 2017).

На відміну практично від усіх інших спорадичних пріонних захворювань людини, за яких стійкий до *PK PrP<sup>Sc</sup>* (*PrP<sup>res</sup>*) електрофоретично розділяється на 3 основні смуги, *VPSPr PrP<sup>res</sup>* характерно розділяється на 5 смуг. Крім того, хоча всі 3 смуги *PrP<sup>res</sup>* розщеп-

люються *PK* виключно на *N*-кінці та відокремлюються відповідно до наявності 2, 1 або 0 цукрових молекул, смуги *VPSPr PrP<sup>res</sup>* включають лише моноглікозильовану та неглікозильовану форми, які розщеплюються лише на *N* кінці або на обох *N*- і *C*-кінцях. Таким чином, урізаний *PrP<sup>res</sup>* на *C*-кінці не має якоря *GPI* (глікозилфосфатидилінозитолу). Також спостерігалися додаткові відхилення щодо характеристик імунореактивності, співвідношення *PK*-резистентних і чутливих до *PK* видів *PrP<sup>res</sup>*, а також конформаційних властивостей, включаючи розмір агрегату (Gambetti P. et al., 2008; Zou W.Q. et al., 2010; Notari S. et al., 2018). Ці відмінні властивості вказують на те, що *VPSPr PrP<sup>res</sup>* є пріонним штамом, відмінним від штамів інших спорадичних пріонних захворювань. Однак пріон *VPSPr* має подібну кількість електрофоретичних смуг *PrP<sup>res</sup>* з пріонами з підгрупи спадкових пріонних захворювань, які називають хворобою Герстмана-Штройслера-Шейнкера (*GSS*), що дозволяє припустити, що *VPSPr* є спорадичною формою *GSS* (Zou W.Q. et al., 2010; Pirisinu L. et al., 2013). Крім того, наявність у *PrP<sup>res</sup> sCJD* 3 електрофоретичних смуг подібних до таких *VPSPr* вказує на їх тотожність (Gambetti P. et al., 2008; Rodríguez-Martínez A.B. et al., 2012; Peden A.H. et al., 2014).

Передача хвороби сприйнятливим господарям є цінним способом подальшого визначення характеристик штамів, пов'язаних із пріонними захворюваннями. Збудником *VPSPr* експериментально заразили 3 лінії трансгенних мишей, які експресують нормальний *PrP* або клітинний *PrP* людини (*PrP<sup>C</sup>*), що містили залишок *M*, *V* або *MV* на залишку 129 (Notari S. et al., 2014; Diack A.B. et al., 2014). Дані в усіх експериментах були по суті схожими. Заражені миші протягом тривалого часу залишалися безсимптомними, але у половини виявляли вогнищеві бляшки *PrP<sup>res</sup>* з мінімальною губчастою дегенерацією, а *PrP<sup>res</sup>*, імітував електрофоретичний профіль нативного *PrP<sup>res</sup>* на імуноблоті, що було продемонстровано приблизно в одній третині заражених мишей. Під час повторного зараження передачі не спостерігалось.

Nonno R. et al. (2019) вивчали передачу *VPSPr* від пацієнтів з генотипами кодона 129 *MM*, *MV* і *VV* до рудих полівок, які мають генотип *PrP* 109M (*bv109M*) або 109I (*bv109I*). Хоча частота виникнення хвороби, як правило, була низькою під час першого зараження, проте вона підвищилася до 100% після другого зараження, період виживання таких тварин також скорочувався. Автори ідентифікували 3 ізоформи *PrP<sup>res</sup>* з характеристиками окремих штамів у уражених рудих полівок.

**Епізоотологічні відомості.** Як і *sCJD*, *VPSPr* уражає пацієнтів, які мають будь-який з трьох генотипів, *MM*, *MV* і *VV* на поліморфному кодоні 129 гена пріонного білка (*PrP*), в цьому разі *VPSPr VV* становить 65% усіх випадків *VPSPr* (Zou W.Q. et al., 2010).

Відмінні клінічні ознаки включають середню 2-річну тривалість і прояв психіатричних ознак, порушення мови або когнітивні порушення. Невропатологія включає помірну губчасту дегенерацію, амілоїдні мінібляшки *PrP* та відкладення *PrP* у вигляді бляшок. Аномальний *PrP*, пов'язаний з *VPSPr*, зазвичай утворює електрофоретичний профіль із п'яти-семи смуг (відповідно до антитіл), що мають різну резистентність до протеази залежно від генотипу 129. Сімейна пріонна хвороба, пов'язана з мутацією гена *V180I PrP*, яка містить аномальний *PrP* з подібним електрофоретичним профілем, може служити моделлю для вивчення *VPSPr*. Вивчення механізмів передачі тваринам остаточно визначили *VPSPr* як пріонну хворобу (Notari S. et al., 2018).

Це захворювання відрізняється від інших пріонових захворювань. Адже пріонові амілоїди не обмежуються ЦНС, а розподіляються в периферійних нервах і внутрішніх органах. Таким чином, периферійні симптоми переважають на початковому етапі, і симптоми ураження ЦНС виникають пізно. Останнє пов'язане з новими мутаціями в гені пріона (мутація *Y163X*, мутація *Y162X* в італійській родині), що призводить до вкорочення мутованого пріонного білка. А отже, у мутованого білка відсутній якір, який, як правило, прив'язує пріонний білок до клітинних мембран, що, ймовірно, сприяє пріонним білкам потрапляти в рідке середовище організму й мігрувати в інші тканини. Ця нова пріонна хвороба показує, що нова мутація може радикально змінити ділянки, де відкладаються аномальні білки, і симптоми, які вони спричинюють, і це свідчить про те, що наявність пріонного захворювання слід розглядати у хворих з незрозумілою (невстановленої етіології) хронічною діареєю і невропатією або з незрозумілим синдромом аналогічної сімейної амілоїдної полінейропатії (яка спричинює вегетативну або периферійну нейропатію) (Head M.W. et al., 2013).

**Клінічні ознаки і перебіг.** Клінічні особливості *VPSPr* менш стереотипні ніж за *sCJD*; середній вік початку розвитку захворювання становить 70 років, тривалість хвороби – близько 2 років. Маніфестний прояв включає різноманітні рухові розлади, екстрапірамідні ознаки, мозочкові розлади, виникають атаксія та когнітивні порушення, але деменція, яка швидко прогресує зустрічається нечасто. З клінічних ознак виділяють рухові й психічні розлади, розлади мовлення (афазія, дизартрія), екстрапірамідні ознаки, когнітивні пору-



шення. Можуть розвиватися атаксія і паркінсонізм. Приблизно 40% пацієнтів за цього захворювання мають сімейні форми цього розладу (Gambetti P. et al., 2011).

Симптоми проявляються в ранньому дорослому віці; вони характеризуються хронічним водянистим проносом, вегетативною недостатністю (наприклад, затримка сечі, нетримання сечі, ортостатична гіпотензія), і, передусім сенсорною периферійною полінейропатією. Виявляють зниження когнітивних здатностей і судомні напади у пацієнтів у віці 40–50 років. Хвороба прогресує протягом десятиліть, після появи симптомів, в цьому разі пацієнти можуть жити до 30 років. За цього захворювання розроблене лише симптоматичне лікування (Zou W.Q. et al., 2010; Jansen C. et al., 2010; Rodríguez-Martínez A.B. et al., 2010; Gambetti P. et al., 2011; Mead S. et al., 2013).

**Патолого-анатомічні зміни.** Вакуолі виявляють в сірій речовині кори головного мозку, базальних гангліях, таламусі й корі мозочка (Gambetti P. et al., 2008). Невропатологічною особливістю є наявність мікробляшок, які часто розміщені в вигляді “мішеней” й особливо часто виявляються в молекулярному шарі мозочка. Мікробляшки виявляються також в таламусі, базальних гангліях, гіпокампі й корі головного мозку.

**Діагностика.** Імуногістохімія на *PrP* показує строкате дифузне пофарбування в корі головного мозку, в той час, як мікробляшки показують більше інтенсивне маркування й наявність періодичної кислоти Шиффа (*PAS*). Ці невропатологічні особливості є важливими під час диференціації останніх від *sCJD VV1* і *VV2* підтипів (Parchi et al., 1999). Присутність алеля *M129* дещо змінює невро-патологію *VPSPr*, й характеризується наявністю більш великих бляшок, які виявляють переважно за наявності генотипу *MM* (Zou W.Q. et al., 2010).

**Диференційна діагностика.** Визначною особливістю *VPSPr*, яка дала назву цьому захворюванню є наявність *PrP<sup>Sc</sup>* в мозку. Збудник слабо стійкий до перетравлення *PK*, й дає характерну 8-кДа аміно-й карбокситермінально усічену смугу під час вестерн блоту, яка часто супроводжується незначною “драбинкою” смуг, що знаходиться в діапазоні 18–30 кДа (Gambetti P. et al., 2008).

Нечасто *VPSPr* також проявляється *sCJD*-подібним типом *2A* в мозочку, що вказує на молекулярне збіг з *sCJD* (Head M.W. et al., 2013). Дослідження із зараження трансгенних мишей також показали, що *VPSPr* погано відтворюється на них під час експериментального зараження, що також відрізняє його від *sCJD* (Diack A.B. et al., 2014; Notari S. et al., 2014).

## ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ВРХ

Губчаста енцефалопатія великої рогатої худоби (англ. *Bovine spongiform encephalopathy*; син. сказ корів, спонгіформна енцефалопатія, *BSE*) – інфекційна повільна пріонна хвороба великої рогатої худоби, яка характеризується тривалим, до 2,5–8 років, інкубаційним періодом, нервовим синдромом, розвитком дифузної дистрофічної енцефалопатії головного й спинного мозку без ознак запалення (нейрони і сіра речовина мозку пронизані вакуолями і нагадують губку) і 100% летальністю.

Крім великої рогатої худоби уражаються й інші види жуйних, коти, не людиноподібні примати й люди; у котів це захворювання отримало назву котячої губчастої енцефалопатії (*FSE*); варіант хвороби Крейцфельда-Якоба (*vCJD*) у людей. Зараження *BSE* відбувається переважно під час споживання в їжу пріоновмісних тканин від інфікованих тварин. Приготування їжі й стандартні процедури дезінфекції не знищують цього збудника. Інфіковані тварини або люди не хворіють протягом багатьох років, однак хвороба завжди прогресує й призводить до летальних наслідків після появи клінічних ознак. Вперше про *BSE* повідомлено в Великобританії в 1980-х роках. Походження збудника залишається невідомим; однак перероблювання тканин жуйних тварин в корм для годівлі жуйних тварин посилила пріони *BSE* й спричинила вибухову епідемію в Великобританії. Пік епідемії припав на 1992 рік, коли кожен тиждень діагностувалось майже 1000 нових випадків. *BSE* також розповсюдилась в багатьох європейських країнах, Північній Америці, деяких частинах Азії і, ймовірно, в інших регіонах світу. Нині заходи контролю, включно з обмеженнями на корми для жуйних тварин, значно знизили його розповсюдженість, і випадки захворювання стали проявлятися нечасто в інших регіонах світу. Значна частина країн також прийняли нові правила, щоб запобігти потраплянню тканин, які містять пріони *BSE*, в харчові продукти людини.

Внаслідок посиленого спостереження в популяціях великої рогатої худоби на доволі низькому рівні були виявлені атипові пріони *BSE*, які відрізняються від пріонів, що спричинюють “класичну” *BSE* (Baron T. et al., 2011). Нині провідною гіпотезою є та, що ці атипові пріони виникають у великої рогатої худоби спонтанно. Окремі експерименти показують, що атиповий пріон міг бути етіологічним агентом епізоотії *BSE*, коли він підвищив свої вірулентні властивості

потрапляючи з кормом до організму великої рогатої худоби (Irani D.N., 2001; Prince M.J. et al., 2003; Baron T., Calavas D., 2005; Harman J.L., Silva C.J., 2009; Ortiz-Pelaez A. et al., 2012; Seuberlich T., 2014; CFIA, 2015; CDC, 2015).

**Історична довідка.** *BSE* офіційно була зареєстрована вперше в листопаді 1985 р. в Англії під назвою “хвороба скаженої корови”. Існує думка, що ця хвороба існувала в Європі раніше. Назва “губчаста енцефалопатія” стосовно великої рогатої худоби була введена G. Welles et al. (1987) для позначення симптомокомплексу нової хвороби, за якої нейрони і сіра речовина мозку набували губчастої структури. В 1988 році Великобританія заборонила використання м’ясокісткового борошна, отриманого з тканин жуйних тварин, в складі кормів для великої рогатої худоби. У 1992 році у Великобританії було виявлено 37 280 нових випадків захворювання великої рогатої худоби (World Organization for Animal Health, 2020). Безліч жорстких заходів контролю були прийняті (The European Parliament, 2001; BBC News, 2006; Food Standards Agency, 2017; World Organization for Animal Health, 2018; Centers for Disease Control and Prevention, 2018). У Великобританії ці заходи полягали в забороні на годівлю жуйних тварин білком, отриманим від жуйних (1988)(Bradley R., Wilesmith J.W., 1993); було запроваджене спостереження, звітування та вибракування тварин, інфікованих *BSE* (1988) (Bradley R., Wilesmith J.W., 1993); було заборонено споживання субпродуктів від великої рогатої худоби людьми (1989) (Bradley R., Wilesmith J.W., 1993); також запроваджено заборону на згодовування субпродуктів отриманих від великої рогатої худоби всім сільськогосподарським тваринам (1990) (Bradley R., Wilesmith J.W., 1993); ЄС також ввів заборону на годівлю ссавців білками від жуйних тварин у 1994 р. Результатом цих заходів стало суттєве скорочення реєстрації випадків *BSE* через наступні 11–13 років (Watson N. et al., 2021).

В 1989 році Міністерство сільського господарства Сполучених Штатів Америки (*USDA*) заборонило імпорт живих жуйних тварин і більшості жуйних тварин з країн, в яких було встановлено *BSE*. Фактично одночасно хворобу встановили в Ірландії, а з 1990–1991 рр. МЕБ інформувало про неблагополуччя з цього захворювання Швейцарії і Франції. Пік захворюваності *BSE* в Великобританії припав на січень 1993 р., й щотижнево реєструвалось понад 1000 випадків. В 1997 році Канада й США запровадили заборону на згодовування м’яса жуйних, кісткового борошна та інших білків жуйних тварин

під час відгодівлі жуйних тварин. Крім того, в 1997 році США розширили заборону на ввезення й згодовування білків жуйних з усіх країн Європи незалежно від статусу з *BSE*. У 2001 році Європейський Союз запровадив обов'язкове тестування призначеної для забою великої рогатої худоби старшої 30 місяців. В 2003 р. *BSE* було зареєстровано в США й Канаді. Станом на 23 червня 2003 р. в Великобританії було вбито близько 5,8 млн голів великої рогатої худоби старше тридцяти місяців, щоб зупинити розповсюдження цієї хвороби (Richt J.A. et al., 2007; Tyshenko M.G., 2007; Quimby A.E., Shamy M.C., 2015).

Нині є декілька гіпотез виникнення цього захворювання. Згідно з першою *BSE* з'явилась внаслідок експозиції (пасажування) на великій рогатій худобі скрепіподібного агента (збудника скрепі овець), що знаходився в м'ясо-кістковому борошні, яка входила до раціону цих тварин (Tirrel D.A.J. et al., 1992). До м'ясо-кісткового борошна в 1984 р. стали додавати також субпродукти, отримані під час забою великої рогатої худоби, що також сприяло значному збільшенню кількості випадків хвороби. Підтвердженням цьому було зменшення, а потім і швидкий спад епізоотії в Англії після введення в липні 1988 р. заборони на годівлю великої рогатої худоби білками, отриманими від жуйних тварин (Verbytskyi P.I., 2005; Brown P. et al., 2001; Brown P., 2001). Інша гіпотеза була запропонована в британському "Звіті про розслідування *BSE*" (*Report of the BSE Inquiry*, 2001), в якому аналізувались дослідження щодо виникнення й ідентифікації *BSE* і *vCJD* (новий варіант хвороби Крейцфельда-Якоба). Є думка, що в 1970-х роках у великої рогатої худоби відбулась спонтанна мутація, яка й спричинила захворювання.

Від *BSE* за період з 1985 по 1995 рік у Сполученому Королівстві (Великобританія) постраждало 180 000 голів великої рогатої худоби (Anderson R.M. et al., 1996). Загальна кількість великої рогатої худоби з *BSE* в Великобританії у 2010 році становила близько 184 500, тоді як загальна кількість в інших країнах склала близько 5860 (у тому числі в таких країнах як Бразилія, Канада, Ізраїль та Японія) (OIE, 2010). Таким чином, > 95% випадків *BSE* припадало на Великобританію. *BSE* поширився з Великобританії щонайменше у 28 інших країнах, переважно в Європі, з підтвердженими випадками в Азії (Японія), Близькому Сході (Ізраїль) і Північній Америці. OIE повідомила лише про 5 випадків *BSE* у всьому світі у 2015 році, три з яких для Європи, один для Норвегії та один для Канади; у 2016 році

лише два випадки, у Франції та Іспанії та у 2017 році лише один в Ірландії (Corona C. et al., 2017).

У 2004 році було фактично встановлено, що *BSE* не є унікальною інфекцією, спричиненою ідентичним за характеристиками штамом. Одразу у двох країнах були виявлені декілька випадків *BSE* у худоби, яка мала девіантні ознаки захворювання. Французькі дослідники вказали на надзвичайно високу молекулярну масу *PrP<sup>Sc</sup>*. Дослідження методом вестерн-блот, вказували на місце розщеплення протеазою, відмінне від того, що спостерігалось у великої рогатої худоби з “класичним” *BSE* (*BSE-C*) (Biacabe A.G. et al., 2004). Останнє не було відбитком фенотипної варіації, оскільки ряд попередніх досліджень показав, що молекулярні особливості *PrP<sup>Sc</sup>*, такі як сайт розщеплення протеазою є доволі надійною характеристикою *BSE-C*, яка навіть зберігається під час передачі іншим видам, наприклад, у *vCJD* у людини (Collinge J. et al., 1996), або після експериментального зараження цим пріоном овець чи мишей (Hill A.F. et al., 1998; Baron T.G., Biacabe A.G., 2001; Hayashi H.K. et al., 2005; Stack M.J. et al., 2002; Stack M. et al., 2009). В іншому звіті з Італії було описано два випадки захворювання великої рогатої худоби, але в цих випадках молекулярна маса *PrP<sup>Sc</sup>* була дещо нижчою, ніж у *BSE-C*, а частка диглікозильованої смуги була значно меншою (Casalone C. et al., 2004; Biacabe A.G. et al., 2004). Крім того, відмінності нових штамів від класичного *BSE* були додатково підтверджені гістопатологічними дослідженнями, які виявили, що розподіл і характер уражень в мозку великої рогатої худоби чітко відрізнявся від тих, які були описані раніше під час епізоотії *BSE-C*. Ураження були більш виражені в кортикальних ділянках мозку, на відміну від переважного розташування останніх в стовбурі мозку за *BSE-C*, виявлені також були амілоїдні бляшки, які не спостерігалися під час *BSE-C*. Через цю останню характеристику хворобу назвали амілоїдотичною губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби (*BASE*). Отже, на основі відмінностей у молекулярній масі *PrP<sup>Sc</sup>*, а також ідентифікації в вестерн-блот аналізі, збудників виявлених у Франції та Італії позначили як *BSE*, спричинену *H*- та *L*-типом (Buschmann A. et al., 2006). З 2001 року згідно з базами даних Європейського Союзу в Європі було виявлено загалом 69 випадки *BSE L*-типу та 64 *H*-типу. На кінець 2019 року кількість випадків *C-BSE* в ЄС становила 190 469. Найбільшу кількість випадків реєстрували у Сполученому Королівстві, Ірландії та Португалії. Загалом після посиленої заборони на використання у відгодівлі кормів з білком від жуйних (1 січня 2001 р.)

виявлено 61 випадок *C-BSE* у тварин, які народились після цієї заборони (EFSA, 2020).

*BSE* становить соціально-економічну катастрофу для неблагополучних із цього захворювання країн. Велика рогата худоба, хвора на *BSE*, є однією з причин захворювання людей на *vCJD* (Horby P., 2002; Giovannini A. et al., 2005; Colchester A.C., Colchester N.T., 2005; Vamvakas E.C., 2011; Diack A.B. et al., 2014; Seuberlich T., 2014; CFIA, 2015; CDC, 2015).

**Характеристика збудника.** *BSE* належить до трансмісивних губчастих енцефалопатій (*TSEs*) – групи нейродегенеративних захворювань, які спричинюються пріонами – інфекційними білками, які відтворюються шляхом перетворення нормального клітинного білка в копію інфекційного пріону. Клітинний білок, який отримав назву *PrP<sup>c</sup>*, знаходиться на поверхні нейронів. Патогенні ізоформи *PrP<sup>c</sup>* ще позначають *PrP<sup>res</sup>* (“*res*” означає стійкість пріонів до протеїнази *K* порівняно з нормальним *PrP<sup>c</sup>*). *PrP<sup>Sc</sup>*, *PrP<sup>d</sup>* або *PrP<sup>TSE</sup>* – інші назви цього білка. Пріони, які спричинюють різні захворювання (наприклад, *BSE* або *scrapie*), вважаються різними штамми *PrP<sup>res</sup>* (Seuberlich T., 2014).

Крім “класичного” пріона *BSE*, у великої рогатої худоби можуть бути виявлені щонайменше два атипових пріони *BSE*. Один з них має більш високу молекулярну масу фрагментів, ніж класичний *BSE*, й отримав назву *BSE* “*H*-типу” або *H-BSE*; інший має більш низьку молекулярну масу й має назву *BSE* “*L*-типу” або *L-BSE*. Захворювання, спричинене пріоном *L*-типу, також отримало назву “амілоїдна (амілоїдотична) губчаста енцефалопатія (*BASE*)”. Вважається, що атипові пріони *BSE* є штамми *BSE*. Нині найбільш ймовірною гіпотезою їх походження є та, що вони виникають спонтанно у великої рогатої худоби, на кшталт як деякі пріонні захворювання в інших видів (наприклад, спонтанна хвороба Крейцфельда-Якоба у людини). Повідомлялось, що *L-BSE* і *H-BSE* змінюються на класичний фенотип *BSE* під час пасажування на деяких видах мишей. Останнє привело до виникнення гіпотези, що один з цих пріонів міг першопочатково спричинити епізоотію *BSE* після посилення його вірулентності в харчовому ланцюгу (Seuberlich T., 2014; Comoy E.E. et al., 2008).

Повне знезараження забруднених пріонами тканин, поверхонь і зовнішнього середовища часто є утрудненим. Ці агенти доволі стійкі до більшості дезінфекційних засобів, включно з формаліном і спиртом. Вони також стійкі до впливу тепла, ультрафіолетового опромі-

нення, мікрохвильового опромінення і іонізувального випромінювання, особливо якщо вони захищені органічним матеріалом чи консервовані альдегідними фіксаторами, або якщо титри пріонів є доволі значними. Пріони можуть міцно зв'язуватися з деякими поверхнями, включаючи нержавіючу сталь і пластик, не втрачаючи в цьому разі інфекційної здатності. Пріони, пов'язані з металом, ймовірно є доволі стійкими до деконтамінації. Для оцінки методів дезінфекції пріонів зазвичай використовуються адаптовані до хом'яків пріони скрепі; проте в окремих дослідженнях повідомлялося, що пріони *BSE* стійкіші до дезінфектантів (наприклад, до нагрівання), ніж інші пріони (Saunders S.E. et al., 2008; Langeveld J.P. et al., 2014).

Опубліковано й підтверджено, що лише деякі методи знезараження пріонів ефективні для рутинного використання. Для обробки обладнання і поверхонь традиційно рекомендується 1–2 *N* розчин гідроксиду натрію або розчин гіпохлориту натрію, який містить 2% вільного хлору (20 000 частин на мільйон). Поверхні мають оброблятися більш як одну годину (експозиція) за температури 20°C (68°F) (Seuberlich T., 2014).

Для устаткування рекомендується нічна дезінфекція. Очищення перед дезінфекцією видаляє органічний матеріал, який може захищати пріони. Експериментально деякі м'якші засоби також виявилися ефективними проти певних пріонів за певних умов. До них належать специфічний фенольний дезінфектант, різні лужні і ферментативні мийні засоби (хоча ефективність конкретних засобів в цих класах різна), газова плазма з перекисом водню, радіочастотна газова плазма, додецилсульфат натрію плюс оцтова кислота, мідь плюс перекис водню тощо (Rogez-Kreuz C. et al., 2009). Для пріонів були розроблені нові комерційні деконтамінанти, хоча опубліковані тести їх ефективності різняться. У деяких лабораторіях тканини заздалегідь обробляють мурашиною кислотою (98%) для зниження інфекційності перед розтином тканинних блоків (Giles K. et al., 2008; Rutala W.A. et al., 2010).

Фізична інактивація пріонів (наприклад, на хірургічних інструментах) може бути здійснена шляхом автоклавування за неповного завантаження автоклава за 134°C (273°F) протягом 18 хвилин за тиску 30 фунтів на дюйм. У деяких оглядах також рекомендується 132°C (269°F) протягом 1 години (стерилізатор гравітаційного тиску). Тканинні плівки, що містять пріони, важче деконтамінувати парою після їх висихання, і настанови для дезінфекції хірургічних інструментів у гуманній медицині рекомендують після використання

тримати їх вологими або мокрими до того часу, поки проводиться деконтамінація. Засіб для чищення, який використовується перед автоклавуванням, також слід вибирати з обережністю, оскільки деякі засоби (наприклад, деякі ферментативні обробки) можуть підвищити стійкість пріонів до стерилізації парою. Деякі типи зразків не можуть бути ефективно знезаражені навіть за температур, що рекомендуються. Наприклад, повідомлялося, що мацерати тканин, які містять збудника *BSE*, вимагають волого-теплової стерилізації за  $\geq 155^{\circ}\text{C}$  ( $311^{\circ}\text{F}$ ) протягом 20 хвилин і витримують навіть такі температури, якщо зразок був зневоднений. Сухе тепло є менш ефективним, ніж вологе; адаптовані до хом'яків пріони скрепі можуть виживати за впливу сухого тепла за температури до  $360^{\circ}\text{C}$  ( $680^{\circ}\text{F}$ ) протягом години (Novakofski J. et al., 2005; McDonnell G. et al., 2013), а одна група дослідників навіть повідомила, що пріони вижили після спалювання уражених тканин за  $600^{\circ}\text{C}$  ( $1112^{\circ}\text{F}$ ) (Brown P. et al., 2000). Поєднання хімічної й фізичної деконтамінації може бути ефективнішим, ніж будь-яка з процедур окремо, і були опубліковані ефективні комбінації хімічних агентів (наприклад, *NaOH*) і автоклавування. Навіть найжорсткіша комбінація хімічної та фізичної дезінфекції не гарантує знищення всіх пріонів у всіх типах зразків. Хоча ризик передачі *vCJD* через хірургічні інструменти, знезаражені за допомогою специфічних для пріонів методів, вважається дуже низьким, під час проведення деяких медичних процедур рекомендують використовувати одноразове устаткування і інструменти. Дослідження зі скрепі показали, що знезараження тваринницьких об'єктів, особливо загонів для тварин може бути складним (Saunders S.E. et al., 2008; Rutala W.A. et al., 2010; Vamvakas E.C., 2011; Belay E.D. et al., 2013; Smith J.D. et al., 2013; Belondrade M. et al., 2016).

Окремі дослідники вказують, що компостування може зменшити розповсюдження *BSE*, вказувалось також на те, що ґрунтові мікроорганізми можуть руйнувати пріони в похоронених тушах. В одному з двох досліджень із компостування було виявлено, що *BSE* виявився більш стійким ніж пріони збудники виснажливої хвороби оленів та скрепі (Saunders S.E. et al., 2008; Seuberlich T., 2014; Xu S. et al., 2014).

**Епізоотологічні й епідеміологічні відомості.** У 60–70-ті роки ХХ ст. у Великій Британії значно зросла кількість овець та ВРХ. Так, наприкінці 70-х, на початку 80-х рр. поголів'я овець становило 30 млн, а ВРХ – 6 млн на рік. Відповідно зросла кількість трупів, а також відходів, що залишаються після забою худоби на м'ясо. Серед овець постійно реєстрували захворювання на скрепі. У 80-х рр.



35% племінних вівцеферм Великої Британії були неблагополучними щодо цього захворювання. Щорічно реестрували близько 1% овець, хворих на скрепі (понад 50 тис. гол). Усі ці трупи перероблялись на тваринне борошно. Починаючи з 1971 р. і до 1984 р. заводи з випуску тваринного борошна змінили технологічні процеси. Суть нової технології полягала у відмові від екстракції жирів розчинниками, зниженні температури технологічних процесів з +120°C і більше до +80–90°C та зменшенні часу обробки. Така технологія давала можливість знищити більшість збудників хвороб. Однак на той час нічого не було відомо про пріони, зокрема, про їх виняткову стійкість до впливу фізичних і хімічних факторів. Це все сприяло можливій появі *PrP<sup>Sc</sup>* у тваринному борошні. Під час аналізу обсягів торгівлі Великої Британії встановлено, що у 80-ті рр. XX ст. тваринне борошно експортувалося з цієї країни у майже 100 держав світу. В Англії масове поширення *BSE* почалося з 1985 р. У перші роки епізоотії етіології хвороби не знали, були відсутні інформативні методи діагностики, заходи профілактики та боротьби. Англія продовжувала проводити активну торгівлю, зокрема експортувати худобу та тваринне борошно. Лише через 3 роки було підтверджено, що інфікування худоби відбувається у разі згодовування тваринного борошна, в якому міститься збудник *BSE* – патологічний пріон (*PrP<sup>Sc</sup>*). З 1989 р. було заборонено завозити та згодовувати тваринне борошно з Великої Британії. Водночас з Великої Британії інфікована ВРХ у стані інкубаційного періоду хвороби продавалася в самій державі, а також в інші країни світу. Не було враховано той факт, що хвороба належить до повільних інфекцій і має тривалий інкубаційний період, тому імпорт ВРХ був заборонений пізніше. Слід зазначити, що торгівля продовжувалася також у критичні роки аж до кінця 1988 р. коли вже остаточно було встановлене джерело збудника інфекції. Майже всі країни, які імпортували тваринне борошно із Великої Британії, стали неблагополучними щодо *BSE*. Звичайно, не слід виключати і той факт, що всі неблагополучні країни займалися власним виробництвом тваринного борошна, але якщо врахувати кількість його та внесених біологічних добавок тваринного походження у раціон ВРХ, то ці показники були особливо високими в Англії (Smith P.G., Bradley R., 2003; Verbytskyi P.I., 2005; Seuberlich T., 2014).

*Захворюваність і смертність.* Хоча деякі випадки класичної *BSE* були діагностовані в худоби у віці 22 місяців, пік захворюваності припав на тварин віком 4–6 років, а у тварин у віці менше ніж

30 місяців ця хвороба рееструється не часто. Переважно уражувалася молочна худоба (Arnold M.E., Wilesmith, J.W., 2004). Майже все пріони *L-BSE* і *H-BSE* були виявлені у великої рогатої худоби старше 8 років. Виключенням є випадок виявлення пріона *L-BSE* у 23-місячного бугая в Японії, а також випадок, імовірно, *H-BSE* у 6,5-річної тварини у Швейцарії. *BSE* завжди призводив до летального наслідку після появи клінічних ознак (Terry L.A. et al., 2007; Fukuda S. et al., 2009; Pirisinu L. et al., 2011; Torres J.M. et al., 2011; Guldimann C. et al., 2012; Seuberlich T., 2014; Boujon C. et al., 2016).

Свого часу передбачувана поширеність класичної форми *BSE* в різних країнах варіювалася від більш ніж 100 випадків на мільйон голів великої рогатої худоби до менш ніж 2 випадків на мільйон. Епізоотії *BSE* були зареєстровані в декількох європейських країнах. Перший спалах стався у Великобританії, де з 1980-х років було підтверджено понад 180 000 випадків захворювання. Пік епідемії у Великобританії припав на 1992 рік, коли кожного тижня підтверджувалося близько 1 000 нових випадків, а щорічна захворюваність в уражених стадах становила приблизно 2–3%. В результаті заходів контролю (зокрема, заборони використання кормів) захворюваність знизилася до приблизно 5–10 нових випадків в тиждень у 2004 році, потім до 7–11 випадків в рік у 2009–2011 роках і 0–3 випадків в рік у 2012–2016 роках (Seuberlich T., 2014; European Commission, 2007, 2016).

Пік епідемічної кривої припав на країни, де заборона на використання кормів була запроваджена пізніше; проте нині класична *BSE* стала рееструватись рідко або, ймовірно, відсутня в багатьох країнах. У деяких країнах за межами Європи також спостерігалися випадки класичної *BSE*. У Японії до 2005 року перевірялася вся здорова худоба під час забою, а після цього худоба у віці старше 21 місяця, в період з 2001 по 2009 рік було виявлено 36 випадків, а з того часу – жодного. Канада і США зосередили свої програми тестування на худобі з високим ризиком (наприклад, з ознаками, які притаманні *BSE*), хоча США провели велике тестування зі значним охопленням худоби у 2004–2006 роках. Всього в Канаді було виявлено близько 20 випадків *BSE*, причому останній випадок класичної *BSE* був виявлений у 2015 році, а США повідомили про один випадок класичної *BSE* у тварини, імпортованої з Канади (Richt J.A. et al., 2007; Seuberlich T., 2014; Quimby A.E., Shamy M.C., 2015; CFIA, 2015; CDC, 2015; USDHHS, 2007; U.K.FSA, 2016; U.K.VLA, 2012; USDA APHIS, 2007, 2016; FDA, 2016).

За станом на 2016 рік у світі було виявлено близько 100 тварин, інфікованих *L-BSE* або *H-BSE*. Більшість цих тварин були безсимптомними й були виявлені здебільшого в ході програм епіднагляду за класичною *BSE*. Захворюваність на атипову форму *BSE*, ймовірно, набагато нижче, ніж на класичну форму *BSE*. Її поширеність у Франції й Німеччині може становити всього 1 випадок на 3 мільйони голів дорослої худоби. Випадки атипової *BSE* були зареєстровані також у Нідерландах, Польщі, Данії, Ірландії, Великобританії, Швеції, Австрії, Канаді, Швейцарії (Tranulis M.A. et al., 2011). Незначна кількість випадків також була зареєстрована в Японії, Бразилії й Північній Америці, включно з 3 випадками в США (Masujin K. et al., 2008; Torres J.M. et al., 2011; Guldemann C. et al., 2012; Seuberlich T., 2014; USDHHS, 2007; Tranulis M.A. et al., 2011; U.K.FSA, 2016; U.K.VLA, 2012; USDA APHIS, 2007, 2016; FDA, 2016).

Нині в спеціальній літературі згадується лише про два випадки *BSE* у кіз, і жодного випадку природного зараження в овець не спостерігалось, попри їх сприйнятливість до експериментальної інфекції (Plinston C. et al., 2011; Spiropoulos J. et al., 2011; Jeffrey M. et al., 2015). Адже деякі випадки захворювання дрібних жуйних тварин могли бути помилково діагностовані як скрепі, особливо до того, як епізоотологічний моніторинг за *BSE* був поширений на ці види тварин (Seuberlich T., 2014). Факти захворювання кіз на *BSE* мають важливе значення для здоров'я населення, особливо після того, як було зареєстровано два "природні" випадки (Eloit M. et al., 2005; Jeffrey M. et al., 2006). Таким чином було підтверджено пріоритетність біохімічної диференціації між *BSE* та агентами скрепі в овець та кіз (Relevance T.W.E., 2005) та заборону використання обробленого тваринного білка в кормах для всієї худоби.

Дані епізоотологічного нагляду в Європі, говорять за те, що поширеність *BSE* в овець нині є дуже низькою, якщо вона взагалі трапляється. Оцінка максимальної частки випадків *TSE* в овець, які можуть бути спричинені *BSE*, варіюються від 0,7% до 5%. Експериментально заражені вівці, генетично стійкі до скрепі, ймовірно, також мають деяку стійкість до *BSE* після інтрацеребрального зараження, але не мають імунітету до інфекції або хвороби. Проте деякі дослідження показують, що ці вівці (наприклад, генотип *ARR/ARR*) можуть бути повністю стійкі до перорального зараження (Andréoletti O. et al., 2006; Stack M. et al., 2006; Ronzon F. et al., 2006; González L. et al., 2007; McGovern G. et al., 2015, 2016).

*BSE* здебільшого рееструється у великої рогатої худоби, але спектр господарів цього пріона надзвичайно ширший порівняно з більшістю пріонів. Нечасті клінічні випадки були зареєстровані у кіз; екзотичних тварин в зоопарках, включно із н'ялою (*Tragelaphus angasi*), куду (*Tr. strepsiceros*), видом антилопи гемсбок (*Oryx gazella*), антилопою канна (*Taurotragus oryx*), аравійським ориксом (*O. leucoryx*), сцимитарнорогим ориксом (*O. dammah*), анкольською худобою і північноамериканським бізоном (*Bison bison*); різними видами котячих, включно з домашніми кішками, гепардами (*Acinonyx jubatus*), пумами (*Felis concolor*), оцелотами (*F. pardalis*), тиграми (*Panthera tigris*) і азійськими золотистими кішками (*Catopuma temminckii*); і лемурами, які утримувалися в неволі, і які, ймовірно були заражені через контамінований корм. Вівці можуть захворіти після експериментального зараження, але про випадки природного зараження у цього виду тварин не повідомлялось. У європейських благородних оленів (*Cervus elaphus elaphus*) також можуть розвинути клінічні ознаки, якщо їм згодувати значні дози пріонів. Однак цей вид, ймовірно, не так легко заразити, оскільки лише один із 6 заражених аліментарним шляхом благородних оленів захворів. Норки (*Mustela vison*) (Robinson M.M. et al., 1994) і крабоїдні або довгохвості макаки (*Macaca fascicularis*) також виявились сприйнятливими до аліментарного зараження. Мавпи ігрунки (*Callithrix jacchus*) і білячі мавпи або саймірі (*Saimiri sciureus*) були інфіковані шляхом внутрішньомозкового зараження; однак їх природна сприйнятливість до *BSE* невідома, оскільки цей метод дозволяє пріонам обійти звичайні видові бар'єри (Piccardo P. et al., 2012). Свиней можна було заразити шляхом одночасного введення заразного матеріалу внутрішньочерепним, внутрішньовенним і внутрішньочеревним шляхом або лише внутрішньомозковим зараженням. Однак згодовування їм протягом тривалого часу інфекційних пріонів не спричинювало розвитку хвороби (Wells G. et al., 2003; Konold T. et al., 2009; Hedman C. et al., 2016). В одному з досліджень повідомлялось, що золотистий спар або дорада (*Sparus aurata*), ймовірно, сприйнятливий до аліментарного зараження (Baker H.F. et al., 1993; Wilesmith J.W. et al., 1997; Young S., Slocombe R.F., 2003; Eloit M. et al., 2005; Lasmézas C.I. et al., 2005; Martin S. et al., 2009; Salta E. et al., 2009; Mestre-Francés N. et al., 2012; Strom A. et al., 2014; Seuberlich T., 2014; Dagleish M.P. et al., 2008, 2015; USDHHS, 2007; U.K.FSA, 2016; U.K.VLA, 2012; USDA APHIS, 2007, 2016; FDA, 2016).

Пріон великої рогатої худоби в разі міжвидової передачі часто набуває фенотипу штаму епізоотичної *BSE* (Cunningham A.A. et al., 2004; Béringue V. et al., 2007; Doherr M.G., 2007; Padilla D. et al., 2011).

*L-BSE* може уражувати овець і довгохвостих макак після внутрішньомозкового зараження, хоча відсутні повідомлення про успішне аліментарне зараження (Matsuura Y. et al., 2013). Однак *L-BSE* вдається заразити лемурів аліментарним шляхом, як наслідок зараження в них розвиваються неврологічні ознаки. Мишей вдається заразити *L-BSE* і *H-BSE* інтрацеребральним шляхом.

У березні 1996 р. Міністерство охорони здоров'я Великої Британії повідомило про появу нового варіанту Крейцфельдта-Якоба хвороби у людей. Було вказано, що причиною захворювання є інфікування людей патологічним пріоном великої рогатої худоби, яка латентно хворіла на губчасту енцефалопатію. Таким чином, лише після 10 років від початку виникнення епізоотії *BSE* у Великій Британії було доведено можливість зараження людей *PrP<sup>Sc</sup>* великої рогатої худоби (Hill A.F. et al., 1997; Bruce M.E. et al., 1997; Verbytskyi P.I., 2005; European Commission, 2007; Seuberlich T., 2014).

Джерелом збудника інфекції нового варіанту КЯХ були уражені інфекційним пріоном (*PrP<sup>Sc</sup>*) м'ясні продукти, отримані від великої рогатої худоби. За повідомленнями R.M. Anderson et al. (1996), з 1985 по 1995 рр. у Великій Британії було забито на м'ясо 25 млн гол великої рогатої худоби. З них близько 700000 тварин могли бути хворі на *BSE* (інкубаційний період). З 1989 р. запроваджено заборону використовувати в їжу людям спинний і головний мозок, а також інші ризикові продукти де міг міститись збудник. Однак слід зазначити, що з 1985 по 1989 рр. таких інфікованих тварин могло бути близько 350000 гол, а в той час використовували в їжу людям також і ризиковий матеріал (Verbytskyi P.I., 2005; Seuberlich T., 2014).

Передача пріонів *BSE* здебільшого відбувається аліментарним шляхом (проковтування тваринами або людьми тканин, які містять пріон *BSE*). Молоді тварини є особливо сприйнятливі: деякі дослідження показують, що більшість великої рогатої худоби заражаються пріонами *BSE* протягом перших шести місяців життя. Вівці також найбільш сприйнятливі до експериментального (перорального) зараження протягом перших декількох місяців життя, особливо протягом перших декількох тижнів. Вважають, що у великої рогатої худоби пріони спочатку реплікуються в Пейєрових бляшках клубової кишки, а потім переносяться через

периферійні нерви в центральну нервову систему (ЦНС). Пріони виявлять у мозку великої рогатої худоби вже через 16–24 місяці після зараження (Seuberlich T., 2014).

Найбільш значні концентрації пріонів виявляються в ЦНС (як в головному, так і в спинному мозку) і в клубовій кишці. Однак інфекційний пріон також виявляють в лімфоїдних тканинах, пов'язаних із голодною і товстою кишкою, різних нервових гангліях, периферійних нервах і наднирниках, а також в зоровому нерві й сітківці ока. Накопичення *BSE* в периферійних нервах, нервових гангліях і наднирниках, ймовірно, збігається з накопиченням пріонів в ЦНС або відбувається після цього (Seuberlich T., 2014).

Одній групі дослідників вдалося виявити пріони *BSE* в голодній кишці вже через 4 місяці після перорального зараження. Є незначна кількість повідомлень про наявність пріонів *BSE* в інших тканинах уражених тварин, таких як мигдалики, кістковий мозок, брижі, стравохід, черевна порожнина і передшлунки (можливо, в нервових закінченнях); сенсорні рецептори (м'язові волокна) м'язів, але не міофібрили (в одному з досліджень вдалося виявити пріони навіть в одному зі зразків м'язів, можливо, пов'язаного із закінченнями сідничного нерва); язик і слизова носа великої рогатої худоби в термінальній стадії захворювання; і навіть в концентрованій слині. В цих дослідженнях, як правило, використовувались доволі чутливі методи, виявлялась незначна кількість пріонів, і повідомлялось, що ці тканини містять пріони лише у тварин з клінічними ознаками. У великої рогатої худоби пріони *BSE*, ймовірно, не виявляються в селезінці або лімфоїдних тканинах, крім тих, які пов'язані зі шлунково-кишковим трактом. В більшості досліджень не вдалося виявити пріони *BSE* в м'язах (Hoffmann C. et al., 2011).

Деякі дослідники повідомили про виявлення пріонів в плазмі крові великої рогатої худоби, інші не виявляли їх в крові великої рогатої худоби. Епізоотологічні відомості й дослідження передачі інфекційного пріону говорять за те, що *BSE* не передається з молоком, спермою або ембріонами.

Не існує доказів того, що *BSE* передається горизонтально між великою рогатою худобою; водночас поки що не можуть пояснити факт того що у нащадків інфікованих тварин існує підвищений ризик зараження *BSE*.

В одному з досліджень було показано, що ймовірність розвитку *BSE* у телят вище, якщо корови-матері були на пізніх стадіях цієї

інфекції (тобто ближче до початку клінічних ознак). На підставі цього деякі дослідники навіть вказували на можливість вертикальної передачі інфекції, однак якщо таке й відбувається, то все одно надзвичайно рідко (Seuberlich T., 2014).

В організмі експериментально заражених овець пріони *BSE* накопичуються значно інтенсивніше ніж в організмі великої рогатої худоби. Їх можна легко виявити в більшості лімфоїдних тканин, включно із селезінкою, лімфатичними вузлами й асоційованою з кишківником лімфоїдною тканиною (*GALT*), а також в ЦНС. Передача інфекції через кров була продемонстрована у цього виду. Частина інфікованих вівцематок (18%) навіть передали збудника *BSE* своїм ягнятам в експериментальній отарі. Імовірність зараження ягнят була вище, якщо вівцематка знаходилась на більш пізніх стадіях розвитку захворювання. Інфекційні пріони не були виявлені в плаценті, за виключенням одного мертвонародженого ягняти, й більшість дослідників вважають, що ягнята інфікувались одразу після народження. Одне ягня, яке народилося від *BSE*-негативної вівці, заразилося; однак така горизонтальна передача, ймовірно, відбувається на часто (Hunter N., 2003; Bellworthy S.J. et al., 2005; Hunter N. et al., 2012; Houston F. et al., 2015; USDHHS, 2007; U.K.FSA, 2016; U.K.VLA, 2012; USDA APHIS, 2007, 2016; FDA, 2016).

Вважають, що пріони в зовнішньому середовищі не відіграють суттєвої ролі в епідеміології *BSE*. З усім тим, існують побоювання з приводу їх можливого зберігання в рештках туш після їх поховання.

В одному з досліджень повідомлялось, що в лабораторних умовах інфекційність зберігалась не менше 265 днів у стічних водах або фосфатно-буферному сольовому розчині (Seuberlich T., 2014). Було повідомлення про те, що пріон залишається інфекційним після проходження через травну систему американських круків (*Corvus brachyrhynchos*) (VerCauteren K.C. et al., 2012).

*Географічне розповсюдження.* Випадки класичної *BSE* були зареєстровані у місцевій худоби в деяких європейських країнах, Канаді, Ізраїлі і Японії. Класична *BSE* була зареєстрована лише в імпортованій худоби в окремих країнах, включно із США, Фолклендськими островами й Оманом. Інші країни, такі як Ісландія, Австралія і Нова Зеландія, ймовірно, є вільними від класичної *BSE*. Наявність або відсутність цього захворювання неможливо визначити в країнах, які не мають ґрунтовних програм епіднагляду (Richt J.A. et al., 2007).

Атипові пріони *BSE* були виявлені в країнах Європи, США, Канаді, Японії й Бразилії в результаті програм за *BSE*. Ймовірно, вони присутні й в інших країнах (Brown P. et al., 2006; European Commission, 2007, 2016; Baron T. et al., 2007; Seuberlich T. et al., 2010; Quimby A.E., Shamy M.C., 2015; CFIA, 2015; CDC, 2015; USDHHS, 2007; U.K.FSA, 2016; U.K.VLA, 2012; USDA APHIS, 2007, 2016; FDA, 2016).

У людей іноді розвивається варіант хвороби Крейцфельда-Якоба після вживання в їжу пріоновмісних тканин від інфікованих тварин. Нині всі відомі випадки були спричинені класичним пріоном *BSE*. Чи можуть *H-BSE* і *L-BSE* спричинювати хворобу в людей, поки незрозуміло. Окремі дослідження на лабораторних моделях показали, що люди можуть бути сприйнятливі до *L*-типу *BSE*. Декілька пацієнтів заразилося під час переливання крові від безсимптомно інфікованих людей, а високочутливі методи досліджень виявили пріони *BSE* в крові окремих пацієнтів з типовими симптомами. Існує також можливість передачі інфекції такими шляхами, як трансплантація або використання забрудненого пріонами обладнання під час операцій. У людини пріони *vCJD* (*BSE*) можуть бути виявлені в ЦНС, сітківці й зорових нервах, різних нервових гангліях і лімфоїдних тканинах. Серед лімфоїдних тканин пріони особливо часто виявляються в селезінці, мигдаликах, апендиксі та інших *GALT*; однак їх можна виявити і в інших лімфатичних вузлах. Хоча дуже чутливі методи дозволили виявити пріони в сечі деяких пацієнтів із *vCJD*, відсутні докази того, що це захворювання може передаватися за випадкового контакту (Editorial team, 2007; Seuberlich T., 2014).

*Захворюваність і смертність у разі vCJD.* Нині *vCJD* здебільшого виявляється у молодих пацієнтів. Причина цього до кінця нез'ясована, але можливо, що діти та підлітки більш сприйнятливі до інфекції й/або у них швидше розвивається хвороба, ніж у дорослих. Середній вік початку захворювання становить 26 років (діапазон від 12 до 74 років); для порівняння, за спорадичної (генетичної) форми хвороби Крейцфельда-Якоба він становить 65 років (діапазон від 15 до 94 років). Після появи симптомів хвороби Крейцфельда-Якоба вона завжди закінчується летально (Spencer M.D. et al., 2002; Seuberlich T., 2014).

За станом на травень 2016 року в усьому світі було зареєстровано 228 випадків захворювання *vCJD*. У тому числі 178 випадків у Великобританії, 27 у Франції й менш як 5 випадків в різних кра-



інах Європи, Північної Америки, Азії та Близького Сходу. За виключенням французьких випадків, переважна більшість (185 осіб) проживали у Великобританії понад 6 місяців під час піка епідемії *BSE*, і, швидше за все, заразилися саме там. Останніми роками кількість діагностованих випадків хвороби *vCJD* знижується. Захворюваність в Великобританії досягла піка у 2000 році, коли було діагностовано 28 випадків, й поступово знизилась до 5 випадків на рік у 2005 році. В період з 2006 по 2011 рік реєструвалось 2–5 випадків на рік, а в період з 2012 до 2016 року було діагностовано лише два додаткових випадки. Нині всі люди з підтвердженими клінічними випадками були гомозиготні за метіоніном в кодоні 129 в білку *PrP<sup>C</sup>* (*M/M*). Одна людина, гетерозиготна за метіоніном/валіном в цьому кодоні (*M/V*), була інфікована під час переливання крові, але в неї не розвинулись симптоми *vCJD*, й ця людина померла від непов'язаних причин через 5 років. Можливий, але не підтверджений клінічний випадок зареєстрований у людини з *M/V* у 2009 році. Поки що незрозуміло, чи в людей зі стійкими генотипами (*V/V* або *M/V*) не розвивається *vCJD*, або мова йде про більш тривалий інкубаційний період (Ludlam S.A., Turner M.L., 2006; Gill O.N. et al., 2013; Barria M.A. et al., 2014; Diack A.B. et al., 2014).

Кількість людей, які заразились безсимптомно, і процент тих, у кого може розвинутися *vCJD*, до цього часу нечіткі. Беручи до уваги структуру інфекції в Великобританії, деякі дослідники зазначають, що можна очікувати ще не більше 70 додаткових випадків. Однак дослідження лімфоїдних тканин, таких як мигдалики або апендикс, показують, що від 1 із 2000 до 1 із 10000 людей в Великобританії можуть бути інфіковані субклінічно. Одне з останніх великомасштабних досліджень виявило пріони *BSE* в 0,05% зразків апендикса, архівованих між 2000 і 2012 роками. Це дослідження показало, що серед виявлених з пріонами *BSE*, переважають люди з генотипом *V/V*, а також в них виявлявся генотип *M/V*. Чи розвинеться в таких інфікованих осіб коли-небудь синдром *vCJD* залишається невідомим (Hilton D.A., 2006; Gill O.N. et al., 2013; Diack A.B. et al., 2014; Maheshwari A. et al., 2015; Andrews N.J., 2016).

В нашій державі випадків губчастої енцефалопатії ВРХ не зареєстровано. В таблиці 5 наведені дані ДНДІЛДВСЕ щодо досліджень на це захворювання в Україні.

Таблиця 5 – Дані досліджень ДНЦЛДВСЕ на гвбчасту енцефалопатію

Метод дослідження	Рік																	Всього							
	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015		2016	2017	2018	2019	2020	2021	
Гісто-логічний	25	149	1381	5251	5556	5985	6371	4654	4957	6170	6310	6859	6671	6860	6801	6521	5300	4408	4205	1758	194	5	-	-	96391
Імуногісто-хімічний	-	-	-	-	-	18	111	32	33	17	82	13	83	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	407
Prionics®-Check Western	-	-	-	-	-	-	1999	961	222	-	283	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3465
Prionics®-Check PrioSTRIP	-	-	-	-	-	-	-	-	1079	1742	758	234	32	106	132	63	-	-	-	-	392	-	-	-	4538
ФІА	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5244	14536	281	-	-	183	14246	175	-	-	-	34665
ІФА	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	130666	128202	21001	279869	
Всього:	25	149	1381	5251	5556	6003	8481	5647	6291	7929	7433	7106	6786	12228	21469	6865	5300	4408	4388	16004	131427	128207	21001	419335	

**Патогенез.** В тонкому кишківнику  $PrP^{Sc}$  накопичується в пейєрових бляшках (Andréoletti O. et al., 2000), а  $M$ -клітини всередині пейєрових бляшок є важливими “воротами” для  $PrP^{Sc}$  (Donaldson D.S. et al., 2012). Під час пріонних захворювань ці клітини здатні трансцитозувати пріонний білок з просвіту кишки в епітелій (Corona C. et al., 2017). Протягом перших 8 місяців після інфікування  $PrP^{Sc}$  перебуває в підгрупі мононуклеарних фагоцитів, знайдених в унікальному мікросередовищі зародкових центрів у кишково-асоційованій лімфоїдній тканині (*GALT*) ілеоцекального з’єднання та голодної кишки та в пейєрових бляшках клубової кишки (Terry L.A. et al., 2003). Далі відбувається реплікація  $PrP^{Sc}$  в *FDC* (*follicular dendritic cell*), які експресують  $PrP^C$ . Нервова система кишківника є шляхом потрапляння інфекційного пріона в нервову систему (Jeffrey M. et al., 2006). Через брижові нерви інфекційні пріонні білки потрапляють до черепно-мезентеріального гангліозного комплексу, а потім підіймаються до грудного відділу спинного мозку через симпатичну нервову систему й аж до стовбура мозку й головного мозку через парасимпатичну нервову систему (наприклад, блукаючий нерв) і вузловий ганглії. Від грудного відділу спинного мозку  $PrP^{Sc}$  поширюється до довгастого мозку і каудально до “кінського хвоста” (Balkema-Buschmann A. et al., 2011). Після нагромадження у спинному мозку  $PrP^{Sc}$  накопичується в гангліях спинного корінця, трійчастих гангліях і шийних гангліях (Arnold M.E. et al., 2007). Наднирники та сідничний нерв також були описані як тканини з очевидним накопиченням пріонного білка (Espinosa J.C. et al., 2007).

Патогенез атипичної форми *BSE* до кінця не розшифровано. Є окремі відомості щодо периферійного поширення агентів *H*- і *L-BSE* у великої рогатої худоби, експериментально заражених внутрішньомозковим шляхом. Експериментальні дослідження передачі продемонстрували, що як *H-BSE*, так і *L-BSE*  $PrP^{Sc}$  накопичуються в тканинах ЦНС, периферійних гангліях і нервах, м’язах, наднирниках та сітківці (EFSA, 2014). Під час дослідження лімфоїдної тканини і тканин шлунково-кишкового тракту за атипичного *BSE* інфекційного пріону не виявлено (Imamura Y. et al., 2010).

*Розподіл пріонів BSE в тканинах великої рогатої худоби і овець.* У великої рогатої худоби найвищі концентрації пріонів спостерігаються в центральній нервовій системі (ЦНС) і клубовій кишці. Чутливі методи діагностики також виявили цей агент в лімфоїдних тканинах, пов’язаних з голодною і товстою кишкою, спинномозкових гангліях, периферійних нервах і наднирниках, а також в зоровому

нерві і сітківці. Накопичення *BSE* відбувається також в периферійних нервах, нервових гангліях і наднирниках, а також в зоровому нерві і сітківці. Накопичення *BSE* в периферійних нервах, нервових гангліях і наднирниках, ймовірно, збігається з накопиченням пріонів в ЦНС або відбувається одразу після цього. Є незначна кількість повідомлень про виявлення пріонів *BSE* в мигдаликах, брижах, стравоході, сичузі, рубці (можливо, в нервових закінченнях); слизовій оболонці язика і носа великої рогатої худоби в термінальних стадіях захворювання; і навіть в концентрованій слині. В цих дослідженнях здебільшого використовувались доволі чутливі методи діагностики. В дослідах виявляли незначну кількість пріонів і повідомлялось, що в згаданих тканинах пріони виявлялись лише у тварин з клінічними ознаками. Одне з таких досліджень дозволило виявити низькі рівні *BSE* в сенсорних рецепторах (м'язові волокна) м'язів, але не в міофібрилах. В іншому дослідженні повідомлялось про виявлення пріонів в одному зразку м'язів (ймовірно, пов'язаному з закінченнями сідничного нерва). Зовсім нещодавно виявили пріони *BSE* в скелетних м'язах. Дослідники пов'язують це з імовірним відцентровим поширенням агента з центральної нервової системи через соматичні моторні та/або сенсорні шляхи до периферійних м'язових тканин (Okada et al., 2014). Однак більшість досліджень не виявляли пріонів *BSE* в м'язах. У великої рогатої худоби пріони *BSE* не виявляються в селезінці або лімфатичних тканинах, які пов'язані зі шлунково-кишковим трактом (Beekes M., McBride P.A., 2007; Espinosa J.C. et al., 2007; Kimura K., Haritani M., 2008; Sohn H.J. et al., 2009; Balkema-Buschmann A. et al., 2011; Fast C. et al., 2013; Okada H. et al., 2012, 2014). До цього часу немає доказів присутності пріонів *BSE* в спермі, ембріонах, плаценті або молоці (Bradley R., Wilesmith J.W., 1993).

Як уже зазначалось одні дослідники вважають, що пріони *BSE* присутні в зразках плазми крові великої рогатої худоби, хоча інші дослідники їх не виявили. Пріони *BSE*, ймовірно, більш широко розповсюджені в овець, ніж у великої рогатої худоби. У експериментально інфікованих овець ці пріони легко виявляються в багатьох лімфоїдних тканинах, включно з селезінкою, лімфатичними вузлами і лімфоїдною тканиною, асоційованою з кишківником (*GALT*), а також в ЦНС. Повідомлялось також про можливість зараження овечою кров'ю (Seuberlich T., 2014).

Окремі дослідження показали, що у великої рогатої худоби тканинний розподіл збудників атипової *L-BSE* і *H-BSE* подібний до класичної *BSE*, пріони в цьому разі виявляються переважно в ЦНС.

Однак існують деякі відмінності в характері розповсюдження в мозку). В деяких дослідженнях *H-BSE* і *L-BSE* також були виявлені в периферійних нервах, нервових гангліях і сенсорних рецепторах (м'язові волокна), а *L-BSE* була виявлена в наднирниках. Як уже зазначалось, пріони були виявлені в м'язах зараженої *L-BSE* великої рогатої худоби, а інфекційність була виявлена в гомогенатах м'язів за допомогою біопроби на мишах. Чи відбувається вертикальна передача інфекції, невідомо. Окремі телята, які народилися від корів на пізніх стадіях зараження *L-BSE*, не були інфікованими (Balkema-Buschmann A. et al., 2011; Ono F. et al., 2011; Torres J.M. et al., 2011; Guldimann C. et al., 2012; Suardi S. et al., 2012; Holznagel E. et al., 2015; Costassa E.V. et al., 2016).

**Клінічні ознаки й перебіг.** Інкубаційний період для класичної *BSE* оцінюється приблизно у 2,5–8 років у великої рогатої худоби, а в деяких випадках він може становити понад 10 років. Клінічний прояв захворювання зазвичай реєструють у дорослої великої рогатої худоби в піковому віці від 4 до 5 років, і всі породи є однаково сприйнятливими. Інкубаційний період в овець, яким експериментально згодовували пріони *BSE* становив від 1,5 до 6 років. Інкубаційний період у благородного оленя після перорального зараження становив 9 місяців, 15 місяців – у норки і декілька років у експериментально заражених макак (Seuberlich T., 2014).

Клінічні ознаки можуть включати аномалії ходи (особливо атаксію задніх кінцівок) й труднощі у разі подолання перепон, низьке положення голови, гіперреактивність на подразники, тремор і поведінкові зміни, такі як агресія, нервовість або боязливість. Виникає також страх, зміна темпераменту й навіть лють. Поєднання поведінкових змін, гіперреактивності на подразники і аномалій ходи має наводити на думку про *BSE*. Однак у деяких тварин спостерігається лише одна категорія неврологічних ознак. Поведінкові ознаки часто проявляються на початковому етапі, а небажання корів доїтися, як повідомляється, є поширеною ранньою ознакою цієї хвороби в молочної худоби (Seuberlich T., 2014).

Крокувальна хода, за якої ноги рухаються бічними парами, спостерігалася у 25% великої рогатої худоби з *BSE* й також є типовою ознакою цього захворювання. Інтенсивне свербіння зазвичай не спостерігається у великої рогатої худоби, але деякі тварини можуть постійно облизуватися або тертися об огорожу.

Неспецифічні ознаки включають погіршення стану, втрату маси тіла, скрегіт зубами (можливо, із-за вісцелярного болю або невроло-

гічного захворювання) і зниження продукції молока. Також повідомлялося про зниження кількості скорочень рубця, брадикардію і зміну серцевого ритму.

Ознаки *BSE* зазвичай прогресують поступово, від декількох тижнів до декількох місяців, але в окремих випадках хвороба може розвиватися гостро і швидко прогресувати. Швидкий, гострий початок неврологічного захворювання часто реєструється в екзотичних жуйних тварин в зоопарках. Після появи клінічних ознак *BSE* завжди прогресує і закінчується смертю тварини. Останні стадії характеризуються тим, що тварина постійно лежить, виникає кома і смерть (Seuberlich T., 2014).

Особливості атипичного *BSE* у великої рогатої худоби все ще докладно не вивчені. *H-BSE* і *L-BSE* здебільшого були виявлені у худоби з безсимптомним перебігом, загинув тварин або у тварин, яких забивають на санітарних бойнях (екстрені ситуації). *H-BSE* в одній 13-річній корови характеризувалась зміною поведінки (незвичний страх). Неврологічні ознаки також були зареєстровані у 19-річного бугая зебу (*Bos indicus*) з *H-BSE* в зоопарку (Seuberlich T., 2014).

Під час експериментів із використанням внутрішньочеревного зараження великої рогатої худоби виявляли різні клінічні ознаки. Дослідники дійшли до висновку, що клінічно *L-BSE* можна відрізнити від класичної *BSE*, інші дослідники повідомили, що спектр клінічних ознак є доволі подібними.

Одна група дослідників повідомила, що у фризької та альпійської бурої худоби, зараженої італійським ізолятом *L-BSE*, розвинулось захворювання, яке характеризувалося в першу чергу пасивністю, “розумовим ступором” (наприклад, зниженням пильності) і атрофією м’язів, яке можна було відрізнити від класичної *BSE*. Повідомлялося, що тварини в цьому дослідженні були гіперреактивні в разі тактильної лицьової стимуляції, але практично не реагували на світло або звук. У цьому експерименті в тих же порід, заражених пріонами класичної *BSE*, спостерігались поведінкові зміни (наприклад, агресивність, ревіння), а також постуральні аномалії й гіперреактивність на подразники (Seuberlich T., 2014).

Інша група дослідників виявила, що в голштино-фризької худоби, зараженої німецькими ізолятами *H-BSE* і *L-BSE*, початкові ознаки атипичного *BSE* були більш неспецифічними (наприклад, втрата маси тіла і погіршення загального стану), але відмінностей було недостатньо, щоб однозначно відрізнити ці форми перебігу від класичного *BSE*. Ця худоба реагувала гіперреактивно на звукові, візуальні й тактильні

подразники. Інші клінічні ознаки також були подібними на прояви класичної *BSE*. Ще в одному експерименті заражали нащадків схрещування данських голштинів і абердин-ангусів, заражених італійським штамом *L-BSE* і штамом *H-BSE*. В цьому дослідженні були зареєстровані як “оглумоподібна”, так і “нервова” форми хвороби; однак оглум у тварин виявлявся не часто, значна частина тварин реагували гіперреактивно на зовнішні подразники, включно з тактильними й лицьовими стимулами. В цьому дослідженні у великої рогатої худоби, як правило, розвивалася дизметрія й труднощі з вставанням, але жодна з тварин не перейшла в постійне лежаче положення (на відміну від тварин з класичною *BSE*, у яких розвивалася атаксія). В одному з досліджень, де було використано японський ізолят *L-BSE* у голштинської худоби, повідомлялось про зниження активності, гіперреактивність на подразники, атаксію переважно задніх кінцівок, труднощі під час вставання і незначну агресивність (Fukuda S. et al., 2009; Okada H. et al., 2011; Ono F. et al., 2011; Torres J.M. et al., 2011; Yokoyama T. et al., 2011; Yokoyama T. et al., 2011; Konold T. et al., 2012; Guldinann C. et al., 2012; Seuberlich T., 2014).

В експериментально заражених овець спостерігались різні неврологічні ознаки. В одному з досліджень із шевіотською породою овець здебільшого розвивались атаксія з мінімальним свербінням, і вони гинули протягом декількох днів або тижня. В місцевих французьких порід клінічні ознаки включали атаксію й інтенсивне свербіння з втратою шерсті. Стан цих тварин погіршувався повільно, і вони гинули приблизно через 3 місяці після початку реєстрації клінічних ознак. Ще в одному дослідженні використовувалися здебільшого вівці порід суффолк і ромні, а також декілька особин інших порід, і повідомлялося, що клінічні ознаки були схожими в усіх тварин. Свербіння було виявлене в усіх клінічно уражених овець (проте слід зазначити, що ця ознака також була відмічена у 29% овець, в яких не було ознак *BSE* під час забою). Інші ознаки у деяких тварин включали зміни поведінки, скреготіння зубами, аномалії руху, включно з тремором і атаксією, гіперреактивність на слухові стимул-реакції або зниження реакції на загрозу в декількох тварин, а також втрату маси тіла до повної кахексії. Змінена поведінка у поєднанні з атаксією і свербінням була виявлена у 40% цих овець (Konold T. et al., 2008; Seuberlich T., 2014).

Декілька випадків *BSE*, було зареєстровано у природно інфікованих кіз й виявлені ці випадки були під час забою. Одну з кіз підозрювали у захворюванні на скрепі, проте після дослідження вияви-

лось що це *BSE*. Неврологічні ознаки були зареєстровані в експериментально заражених кіз. У одному дослідженні хвороба характеризувалася атаксією і тремором і швидко прогресувала у кіз заражених внутрішньочеревним методом; клінічні ознаки у кіз заражених пероральним методом характеризувались переважно млявістю і втратою маси тіла, які прогресували до лежачого стану протягом 3 тижнів. У кіз заражених пероральним методом (на відміну від інтрацеребрального) не виявляли ознак свербіж (Konold T. et al., 2010; Seuberlich T., 2014).

В іншому дослідженні в інтрацеребрально заражених зааненських кіз розвинулися аномалії руху (наприклад, атаксія, тремор, постануральні порушення й особливо гіперметрія) і гіперреактивність на подразники. В ході експерименту обнюхування і погризання тварин і предметів змінилося на аверсивну поведінку (від лат. *aversio* – відраза, неприязнь), й ці ознаки з часом ставали усе більш вираженими. Одна коза низько несла голову, коли її не турбували, і була неадаптивна. Інші ознаки у деяких тварин включали свербіж, відсутність реакції на загрози, скреготіння зубами і втрату маси тіла (Seuberlich T., 2014).

Про неврологічні ознаки повідомлялося і в інших видів тварин, експериментально заражених *BSE*. Втрата маси тіла передувала поведінковим ознакам (страх, занепокоєння) й іншим неврологічним ознакам (наприклад, стереотипні рухи головою, ненормальні рухи вух) в одного благородного оленя. У цієї тварини також розвинулося чутне ротове дихання і птіалізм (гіперсалівація). В норку клінічні ознаки включали зниження апетиту, млявість і неврологічні ознаки, які здебільшого характеризувались атаксією задніх кінцівок, яка інколи переходила в параліч задніх кінцівок. Підвищена збудливість і гіперагресивність, яка характерна для трансмісивної енцефалопатії норку, у цих тварин не спостерігались. У нелюдиноподібних приматів розвивались неврологічні ознаки і спостерігалась поступова втрата маси тіла на пізніх стадіях захворювання (Doherr M.G., 2007; Seuberlich T., 2014).

Основні ознаки губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби пов'язані зі зміною поведінки, порушенням чутливості та координації рухів. У хворих тварин яскраво виражена лякливість, нервовість і навіть агресивність. Тварини непокояться за наближення людей, інших тварин (б'ють кінцівками та головою, здригаються всім тілом, падають). Крім того, відмічається салівація, тварини часто облизують крила носа. Спостерігається тремор м'язів губ, носового дзеркала, ший, передньої частини тулуба, боків і навіть всього тіла. У більшості



тварин реакція на світло відсутня – розширена зіниця ока не реагує на світлові подразники. Виражена підвищена тактильна чутливість шкіри в ділянці голови й шиї (гіперестезія). Тварини підіймаються спочатку на грудні кінцівки (кінський тип), потім на тазові. Хворі тварини стають згорблені, у них відмічаються коливальні рухи. Під час руху помітна несиметрична постановка передніх кінцівок, атаксія задньої частини тулуба, спотикання і навіть падіння, що особливо характерно за кругових рухів. Тварина тяжко долає перепони, не реагує на них, наштовхується на стіни, дерева, тварин і людей. Спостерігаються манежні рухи. У більшості тварин температура тіла протягом хвороби залишається у межах фізіологічної норми, нечасто підвищується. Апетит зберігається, проте моторика рубця ослаблена, тварина худне і знижує молочну продуктивність. В разі вигону чи виведення тварин із приміщень вони збудженням реагують на різні перешкоди, які зустрічаються на їхньому шляху, роблячи великі стрибки через гнійний транспортер, через коробку сірників тощо. Таке явище називають *гіперметрія* (тварина не може адекватно оцінити розміри предмета). Наприкінці захворювання тварини не можуть піднятися, виникають парези й залежування (Konold T. et al., 2004; Verbytskyi P.I., 2005).

В матеріалах таблиці 6 наведені типові симптоми хвороби у 50 корів.

Таблиця 6 – Типові симптоми в корів, хворих на *BSE* (Braun U. et al., 1998)

Симптоми	Кількість корів із симптомами	
	голів	%
Порушення поведінки:	48	96
Сильне збудження	48	96
Буяння	33	66
Полохливість	33	66
Нервовість	32	64
Агресивність	21	42
Скрегіт зубами	23	46
Салівація	15	30
Часте облизування носа	15	30
Напруження крил носа	8	16
Порушення чутливості:	49	98
Підвищена чутливість шкіри	49	98
Підвищена чутливість до звуків	42	84
Підвищена чутливість на світло	22	44
Порушення рухової сфери:	44	88
Атаксія	44	88
Тремор	16	32

Інкубаційний період для *vCJD* (нового варіанту КХЯ) важко вірогідно встановити; однак середній інкубаційний період оцінюється в 11–12 років, а окремі люди до появи симптомів залишались безсимптомними до 16 років. Простежено, що у трьох випадках після переливання крові, інкубаційний період становив від 6 до 8,5 років. Для порівняння, деякі інші пріонні хвороби людини мають схожий середній інкубаційний період, але іноді від часу зараження до прояву клінічних ознак минало до 40 років (Spencer M.D. et al., 2002; Seuberlich T., 2014).

Симптоми *vCJD* в цілому подібні з такими за спорадичної (генетичної) форми хвороби Крейцфельда-Якоба, але здебільшого *vCJD* проявляється у більш молодих пацієнтів. Першими клінічними ознаками, як правило, є психіатричні симптоми, такі як тривожність, депресія, безсоння, соціальна замкнутість, марення і постійні хворобливі сенсорні симптоми. У більшості пацієнтів присутні явні неврологічні ознаки, такі як порушення ходи, атаксія, порушення координація, втрата пам'яті. Невиразна мова і тремор з'являються через декілька місяців; проте в частини пацієнтів неврологічні ознаки збігаються з психіатричними симптомами або передують їм. Когнітивні функції поступово погіршуються. Довільні рухи (наприклад, хорія, дистонія, міоклонус), порушення зору і деменція зазвичай розвиваються на пізніх стадіях захворювання. Більшість пацієнтів вмирають протягом двох років (Spencer M.D. et al., 2002; Seuberlich T., 2014; CJD Unit, U.K., 2016).

Всі відомі нині клінічні випадки захворювання сталися у людей з певним генотипом. Деякі автори відзначають, що якщо люди з іншими генотипами стійкіші, але не володіють імунітетом до *vCJD*, то їх симптоми та перебіг хвороби можуть відрізнятися від синдрому, який уже описаний (Hall V. et al., 2014; Diack A.V. et al., 2014).

**Патолого-анатомічні зміни.** Грубі ураження, які можна побачити неозброєним оком не спостерігаються за *BSE*, за виключенням неспецифічних ознак, таких як виснаження. Гістопатологічні ураження обмежуються ЦНС. У загиблої або забитої великої рогатої худоби виявляють вакуолізацію нейронів й губчасті зміни з відсутністю запалення в сірій речовині мозку. Ці ураження здебільшого, але не завжди, двобічно симетричні. Амілоїдні бляшки не характерні для інфекцій спричинених класичним пріоном *BSE* або *H-BSE*, проте асоціюються з пріонами *L-BSE*. Подібні губчасті зміни виникають в експериментально заражених овець і макак.

Відразу після смерті або забою, до настання лізису тканини й розвитку мікроорганізмів, відбирають довгастий мозок для виконання

пріон-тесту, а за необхідності й гістологічних, імуногістохімічних та електронномікроскопічних досліджень. Слід відзначити, що нині вже не проводять розпилювання черепа, а спеціальною ложкою відбирають стовбурову частину головного мозку, зокрема довгастих мозок через потиличний отвір. Проби доставляють у лабораторію спеціальним транспортом, суворо дотримуючись правил безпеки. Для гістологічних та імуногістохімічних досліджень проби мозку фіксують у 10% розчині формаліну, для електронної мікроскопії – у 5% глутаральдегіді, для використання пріон-тестів використовують свіжі, нефіксовані, можна заморожені зразки (Yokoyama T. et al., 2011; Seuberlich T., 2014).

**Діагностика.** Тестів для виявлення інфекційних пріонів *BSE* в живих тварин не існує.

Це захворювання, як правило, діагностується через виявлення пріонів (*PrP<sup>res</sup>*) в ЦНС. Під час відбору проб мозку обов'язково відбирають довгастих мозок; проте для деяких інших досліджень (наприклад, для проведення експрес-тестів) можна відбирати проби стовбура мозку через великий потиличний отвір.

Імуноблотинг або імуногістохімія є найбільш специфічними методами. Нині комерційно доступні експрес-тести, які ґрунтуються на імуноферментному аналізі (*ELISA*), автоматизованому імуноблотингу (вестерн-блотинг) й аналізі бічного потоку. Експрес-тести дозволяють перевіряти значну кількість зразків й часто використовуються під час епізоотичного нагляду й післязабійного контролю. Позитивні зразки в експрес-тестах традиційно підтверджуються імуногістохімічними дослідженнями або імуноблотингом. Однак Всесвітня організація охорони здоров'я тварин (МЕБ) зазначає, що підтвердження позитивних результатів іншим експрес-тестом на *BSE* дозволяється за певних обставин (дивись Керівництво МЕБ з діагностичних тестів і вакцин). В аутолізованому мозку можна також підтвердити наявність пріонів *BSE*, адже за цих обставин виявляються характерні пріонні фібрили, які називають скрепі-асоційованими (*SAF*), із використанням електронної мікроскопії; однак цей тест має низьку чутливість. Гістологічне дослідження мозку вважається доволі ефективним у діагностиці цього захворювання (хоча здебільшого не використовується як єдиний підтверджувальний тест), адже в окремих тварин на ранніх стадіях інфекції губчасті зміни виражені слабо або взагалі відсутні (Trieschmann L. et al., 2005; Martin S. et al., 2009; Seuberlich T., 2014).

Більшість тестів, які використовують для діагностики *BSE*, не вельми чутливі й не можуть ефективно виявляти інфекційні пріони

в мозку за 3–6 місяців до появи клінічних ознак (Everest S.J. et al., 2006; Franz M. et al., 2012; Okada H. et al., 2012; Bannach O. et al., 2013; CFIA, 2015; CDC, 2015).

Високочутливі аналізи, включно із методом ампліфікації неправильно згорнутого білка – *PMCA* (*protein misfolding cyclic amplification*) та метод індукованої вібрацією конверсії (*real time quaking-induced conversion; RT-QuIC*) можуть виявити інфікованих тварин раніше ніж інші методи. Ці методи виявляють крихітні кількості пріонів за їх здатністю перетворювати *PrP<sup>C</sup>* (нормальний клітинний білок) на пріони *in vitro*. Вони використовуються переважно з діагностичною метою, але ще не були офіційно оцінені в разі їх застосування для програм епіднадзора (Gray J.G. et al., 2012; Matsuura Y. et al., 2013).

*BSE* також можна виявити біопробу на мишах (зараження); проте інкубаційний період в декілька місяців робить цей метод непрактичним для рутинної діагностики (Seuberlich T., 2014).

Серологія не використовується, оскільки антитіла до збудника *BSE* не виробляються.

Атипові пріони (*H-BSE* або *L-BSE*) можуть бути виявлені за допомогою тих же тестів, включно з експрес-тестами (*PMCA*, *RT-QuIC*), як і класична *BSE*. Характер розподілу *H-BSE* і *L-BSE* в мозку дещо відрізняється від класичного *BSE*, а також один від одного; проте ці пріони можна виявити і в ободовій кишці. Атипові пріони можна відрізнити від класичних пріонів *BSE* за їх властивостями в таких тестах, як імуноблотинг. *H-BSE* має фрагменти з більшою молекулярною масою, ніж класичний *BSE*. Він також реагує з моноклональними антитілами на *N*-кінцевій епітоп, який не зустрічається за класичної форми *BSE* після розщеплювання протеїназою *K*. *L-BSE* має нижчу молекулярну масу, ніж класичні пріони *BSE*. Його схема глікозилювання відрізняється від збудника класичної форми *BSE*, і він має незвичайну схему відкладання в мозку, яка характеризується наявністю амілоїдних бляшок (Hoffmann C. et al., 2011; Torres J.M. et al., 2011; Meloni D. et al., 2012; Seuberlich T., 2014; Orge L. et al., 2015; Orrú C.D. et al., 2015; Masujin K. et al., 2016; Masujin K. et al., 2016; Kumagai S. et al., 2019).

*BSE* у дрібних жуйних тварин необхідно диференціювати від скрепі. В більшості випадків це можна зробити за допомогою звичайних тестів на пріони. Проте *BSE* важче диференціювати від деяких атипових (*Ch1641*) пріонів скрепі. Обмежена кількість аналізів, таких як *PMCA*, деякі спеціальні типи імуноблотів, профілювання

$PrP^{Sc}$  або картування епітопів, можуть дозволити диференціювати два останні агенти (Seuberlich T., 2014; CFIA, 2015; CDC, 2015).

Тести, які погоджені для активного нагляду в ЕС, перераховані в Положенні С Глава X Регламенту *TSE 999/2001* і наступних поправок (European Commission, 2009). Нині згідно останнього Положення 1148/2014, можна використовувати наступні тести: – тест імуноблотингу, який ґрунтується на процедурі вестерн-блотинга для виявлення резистентного до протеїнази *K* фрагмента  $PrP^{Res}$  (*Prionics-Check Western test*); – сендвіч-імуноаналіз для виявлення  $PrP^{Res}$  (короткий протокол аналізу) проводять наступні етапи денатурації й концентрування (*Bio-Rad* експрес-тест *TeSeE SAP*); – імунний аналіз на основі мікропланшетів (*ELISA*), який виявляє протеїназу *K*-резистентні  $PrP^{Res}$  з моноклональними антитілами (*Prionics-Check LIA test*); – двобічний імунний аналіз з використанням двох різних моноклональних антитіл направлений проти двох епітопів, представлених в доволі розгорнутому стані бовісний  $PrP^{Sc}$  (набір *Roboscreen Beta Prion BSE EIA Test Kit*); – імунний аналіз з використанням хімічного полімеру для селективного захоплення  $PrP^{Sc}$  й моноклональні детектуючі антитіла, направлені проти консервативних ділянок молекули  $PrP$  (набір *IDEXX HerdChek BSE Antigen Test Kit, EIA & HerdChek BSE-Scrapie Antigen (IDEXX Laboratories)*); – імуноаналіз із латеральним потоком з використанням двох різних моноклональних антитіл для виявлення стійких до протеїнази *K* фракцій  $PrP$  (*Prionics Check PrioSTRIP*).

Попередній діагноз на *vCJD* може бути встановлений до смерті на підставі анамнезу, клінічних ознак й встановлення атрофії кори головного мозку з використанням магнітно-резонансної томографії (МРТ). Електроенцефалограма (ЕЕГ) здебільшого в нормі, нечасто виявляють характерні відхилення, які спостерігають за спорадичного синдрому Крейцфельда-Якоба (якщо вони взагалі виникають, то їх можна побачити на пізніх стадіях захворювання). Кінцевий діагноз може бути вставлений в разі виявлення пріонів в біоптатах мигдаликів за допомогою імуноблотингу (вестерн-блотинг) або імуногістохімії. В інших випадках діагноз встановлюється в разі мікроскопічного дослідження тканин мозку (після розтину). За *vCJD* виявляються численні амілоїдні бляшки, обмежені вакуолями; такі бляшки спостерігаються лише в 5–10% випадків спорадичного (генетичного) синдрому *CJD*. Значна кількість пріонного білка може бути виявлена навколо бляшок за допомогою імуногістохімії. Високочутливі молекулярні методи виявлення інфекційних пріонів (*PMCA, QuIC*) можуть забезпечити виявлення пріонів *BSE* в крові деяких пацієнтів

з ознаками хвороби Крейцфельда-Якоба. Ці тести нині вивчаються як посмертні й скринінгові тести крові. Пріони також були виявлені в сечі деяких пацієнтів (Gough K.C. et al., 2014; Diack A.B. et al., 2014; Lacroux C. et al., 2014; Moda F. et al., 2014; Seuberlich T., 2014; CFIA, 2015; CDC, 2015; Belondrade M. et al., 2016).

**Диференційна діагностика.** *BSE* у ВРХ диференціюють від сказу, лістеріозу, хвороби Ауескі, правцю, ботулізму, пасовищної тетанії, отруєння свинцем, цереброкортикального некрозу, печінкової енцефалопатії, нервової форми кетозу, родильного парезу. За *сказу* в анамнезі з'ясовуються попередні можливі укуси тварин (інкубаційний період у цьому разі становить 15–60 діб у 70% випадків). Хворі тварини (залежно від форми перебігу) агресивні, спостерігається салівація, скрегіт зубами. Проте у хворих не реєструється порушення чутливості та органів чуття (слуху та зору). У хворих на сказ спостерігається гарячка, свербіж місць укусу, параліч язика, порушення ковтання внаслідок парезу м'язів горла, стійка атонія передшлунків тощо. За діагностичного дослідження сказ підтверджується позитивною РІФ і біопробою. Термін “коров'ячий сказ”, що використовувався для описання перших випадків *BSE* нині не використовується. *Лістеріоз* крім нервової форми перебігу в дорослих тварин проявляється маститами й ендометритами. На розтині тварин із нервовою формою лістеріозу часто виявляють гнійний енцефаліт, і, навіть невеликі абсцеси в мозковій тканині. За нервової форми перебігу відзначають парез язика, вух, м'язів голови. Кінцево проводять бактеріологічне дослідження. *Хвороба Ауескі* крім нервової форми перебігу проявляється сильним свербіжем місць проникнення вірусу. Спостерігається гарячка (до 42°C), стійка атонія передшлунків, іноді салівація й потіння. Кінцево хворобу Ауескі виключають вірусологічним дослідженням і біопробою (кролі, котенята). *Правець* розвивається після травмування, кастрацій, операційних і технологічних маніпуляцій, укусів тварини. Звертають увагу на збудження та судоми, порушення тактильної чутливості. Кінцево проводять бактеріологічне дослідження й типування токсину збудника. *Ботулізм* розвивається внаслідок споживання ураженого токсинами корму. У тварин проявляється неспокій і зниження рефлекторної чутливості. Тварини рухаються неохоче, з широко розставленими кінцівками. Слизові оболонки очей, носа і рота гіперемійовані або жовтяничні та ціанотичні. У тварин спостерігають задишку, загальну м'язову слабкість, параліч задніх кінцівок, язика, горла, гортані, слиновиділення, утруднення жуйки, розвивається стійка атонія, запор, параліч ниж-

ньої щелепи та язика (останній випадає з рота). Кінцево проводять бактеріологічне дослідження з типізацією токсину в реакції нейтралізації токсину (CFIA, 2015; CDC, 2015; Seuberlich T., 2014).

Диференціацію від неінфекційних захворювань можна проводити за наступними показниками див. табл. 7.

Таблиця 7 – Диференціація *BSE* від незаразних хвороб, які проявляють з симптомами ураження центральної нервової системи (Verbytskyi P.I., 2005).

Симптоми	Хвороба					
	Отруєння свинцем	Пасовищна тетанія	Церебро-кортикальний некроз	Печінкова енцефалопатія	Нервова форма кетозу	Родильний парез
1. Гарячка	–	+	–	–	–	–
2. Порушення поведінки:						
–збудження	+	+	+	–	+	–
–страх	–	–	–	–	–	–
–нервовість	–	–	–	–	–	–
–агресивність	–	–	–	–	+	–
–салівація	–	+	–	–	–	+
–скрегіт зубами	+	+	–	–	+	–
–пригнічення	–	–	–	+	+	+
3. Порушення чутливості:						
–гіперестезія шкіри	–	+	+	–	+	–
–гіпоестезія шкіри	–	–	–	+	–	–
–підвищена чутливість на звуки	–	–	+	–	–	–
–втрата слуху	–	–	–	+	–	–
–підвищена чутливість на світло	–	–	–	–	–	–
–втрата зору	+	–	+	–	+	–
4. Порушення рухової сфери						
–атаксія	+	+	+	+	–	–
–судоми й тремор	–	+	+	+	+	–
–параліч і парез	–	–	+	–	+	+
–залежування	–	+	–	+	+	+

Слід також мати на увазі, що за *BSE* не реєструють гарячки; завжди реєструють порушення поведінки у вигляді збудження, страху, нервовості, агресивності, салівації, скреготу зубами, пригнічення; реєструють порушення чутливості що проявляється гіперестезією шкіри, підвищеної чутливості на звуки та світло; порушення рухової сфери у вигляді атаксій, судом і тремору, паралічів і парезів, залежування.

**Імунітет.** У разі зараження тварин у природних та експериментальних умовах на місці введення збудник не викликає запальної реакції й організм не виробляє антитіл.

**Профілактика і заходи боротьби.** У деяких країнах для виявлення випадків *BSE* проводиться тестування великої рогатої худоби, а інколи овець і кіз під час забою. В більшості випадків тестування здорової великої рогатої худоби і дрібних жуйних тварин, м'ясо яких призначене для вживання людиною стосується тварин старших певного віку. Свого часу в Японії тестували всю велику рогату худобу, незалежно від віку. Вимоги до тестування тварин з високим ризиком (наприклад, неходяча худоба або худоба з неврологічними ознаками) зазвичай суворіші. У деяких країнах тестують лише (переважно) тварин групи значного ризику. Зі зниженням поширеності *BSE* у світі, навіть ті країни, які раніше перевіряли переважну більшість або всю велику рогату худобу, знизили свої вимоги до тестування.

В разі виявлення інфікованої тварини, уражене стадо зазвичай поміщається в карантин, й проводять розслідування із виявлення джерела інфекції. Когорти інфікованих тварин (наприклад, тварини, що народилися або вирости в одному стаді протягом першого року життя) часто піддаються тестуванню й евтаназії, оскільки вони, ймовірно, піддавалися дії одного і того ж корму в період найбільшої сприйнятливості. У зв'язку з підвищеним ризиком виникнення *BSE* в нащадків інфікованої худоби, ці тварини також можуть бути відстежені і піддані евтаназії.

Класичну форму *BSE* можна профілактувати, заборороною згодовування їм тканин жуйних тварин, які можуть містити пріони. Як правило, необхідно повністю уникати згодовування м'ясо-кісткового борошна, виготовленого із підозрілих тканин і туш, адже технологічні параметри або перероблення не забезпечують повної інактивації пріонів.

Нині багато країн заборонили використання для підгодівлі білків жуйних тварин або ссавців, за деякими виключеннями, такими як молоко і кров, в кормах для худоби. Різні країни запроваджують конкретні заборони із використання білків жуйних. У деяких країнах



заборони поширюються також на інші корми для тварин або навіть на добрива. Останні заходи можуть допомогти запобігти перехресному забрудненню і випадковому зараженню худоби пріонами *BSE*. Хоча заборона використання кормів, виготовлених із білків жуйних може перервати передачу пріонів й дозволяє контролювати епізоотії *BSE*, кількість випадків захворювання може не зменшуватися протягом деякого часу, оскільки інкубаційний період цієї хвороби доволі тривалий. Крім того, країни можуть ввести торговельні заборони на імпорт живої великої рогатої худоби й певних білків жуйних тварин виготовлених із тканин постраждалих країн.

Якщо атипова *BSE* представлена спорадичними (генетичними) випадками, то цю форму хвороби неможливо викоринити. Проте заборона на згодовування білків жуйних може допомогти запобігти посиленню вірулентних властивостей цих пріонів в популяціях жуйних тварин.

Класифікація незначного, контрольованого і невизначеного (неконтрольованого) ризику для класичної *BSE*. МЕБ визнає країни з “*незначним ризиком*” або “*контрольованим ризиком*” класичної *BSE*, якщо вони проводять програми епізоотичного нагляду і відстежування, які відповідають стандартам МЕБ, а також виконують деякі інші критерії (наприклад, заборона на корми, лабораторна підтримка, програми інформування про *BSE* людей, які працюють з худобою). В країнах з *незначним ризиком* або де не реєструвались випадки класичної *BSE* у місцевої худоби, або всі інфіковані тварини народились більш як 11 років тому, в той час, як в країнах з *контрольованим ризиком* випадки *BSE* були зареєстровані нещодавно. Країни, які не відповідають стандартам незначного ризику або контрольованого ризику, класифікуються як країни “*невизначеного ризику*”. Атипова *BSE* нині в цій класифікації не розглядається.

Згідно з вимогами Санітарного кодексу наземних тварин МЕБ система нагляду щодо *BSE* в Україні належить до категорії країн із невизначеним статусом. Основні недоліки системи контролю в Україні стосуються недостатньої кількості моніторингових досліджень, недостатнього контролю кормів із метою виявлення білків жуйних і компонентів тваринного походження, відсутність довгострокової програми навчання ветеринарних фахівців, які працюють з тваринами або продуктами їх перероблювання (Seuberlich T., 2014).

**Заходи щодо запобігання занесенню губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби в Україні.** Здійснення безперервного епізотологічного моніторингу *BSE* щодо: кормів, комбікормів, кормових

добавок, сировини, які містять білки жуйних тварин та компоненти тваринного походження; імунобіологічних засобів та сировини тваринного походження, особливо призначених для проведення ветеринарних обробок ВРХ, овець, кіз, диких парнокопитих тварин, норок, котів; великої та дрібної рогатої худоби, диких парнокопитих тварин, екзотичних котятчих.

Ввезення на територію України ВРХ, репродуктивного матеріалу, патологічного матеріалу, необроблених харчових продуктів тваринного походження, продуктів тваринного походження для сільськогосподарського або промислового використання та продуктів тваринного походження для фармацевтичного або хірургічного використання з країн та регіонів із незначним і контрольованим ризиком щодо *BSE* можливий лише після вивчення епізоотичної ситуації (державною службою ветеринарної медицини) за кожного окремого ввезення, але після обов'язкового встановлення.

Призначена для експорту в Україну ВРХ, як і самиці, які народили цих тварин, виведені і вирощені на території та не походять з регіонів, де офіційними установами були зареєстровані випадки *BSE*.

ВРХ молодше 30 місяців та має індивідуальний ідентифікаційний номер, який дасть можливість визначити самицю, яка її народила, та господарство їх походження.

Тварини перебували з моменту свого народження (щонайменше останні 6 місяців) у господарстві свого походження.

Призначена для експорту в Україну ВРХ не менше 21 дня до вивезення трималась на спеціальних карантинних базах під офіційним контролем ветеринарної служби та піддавалась клінічним і лабораторним діагностичним дослідженням.

Офіційними установами не встановлено, що ВРХ згодовувались продукти, які містять у собі протеїни, – за винятком: молока та молочних продуктів; жирів з тканин птиці та риби; комбікормів, які містять у собі ці окремі кормові речовини.

Можливе ввезення на територію України незалежно від статусу експортуючої країни (згідно з Санітарним кодексом наземних тварин МЄБ): молока та продуктів з нього; шкіри; желатину і колагену, отриманих виключно зі шкіри; депротейнованого жиру; крові та продуктів з неї, отриманих від тварин, забитих безпечним методом (оглушення тварин здійснюється електричним струмом або пневматичним пристроєм), що виключає механічне пошкодження мозку; м'яса із м'язів скелета ВРХ не старше 30-місячного віку, знятого

з кісток, якщо тварини були забиті безпечним методом, підлягали до- та післязабійному огляду, не викликали підозри щодо *BSE*, а їх мозок за проведеного тестування дав негативний результат; туші були розроблені за технологією, що виключає будь-яку контамінацію тканинами ризику.

Забороняється ввозити в Україну з неблагополучних щодо *BSE* регіонів: ВРХ та ВРХ, народжену від підозрюваних у захворюванні чи хворих на губчасту енцефалопатію тварин; овець і кіз; норок та тхорів; сировину, продукти та готові харчові продукти, до складу яких входить білок жуйних тварин; корми, кормові добавки, м'ясне, м'ясо-кісткове та кісткове борошно, до складу яких входить білок жуйних тварин; диких, зоопаркових та циркових парнокопитих тварин (зубрів, буйволів, яків, антилоп, жирафів, бізонів, оленів тощо); північних оленів тощо; ветеринарні препарати або лікарські засоби, виготовлені з органів та тканин жуйних тварин; лікарські, косметичні та парфумерні засоби, до яких додаються білки жуйних тварин. Забороняється ввозити ВРХ з країн, де не введено заборону на згодовування жуйним тваринам кормів, до складу яких входять білки жуйних (м'ясо-кісткове, кісткове, м'ясне борошно тощо).

Якщо в країні-експортері така заборона введена, дозволяється завозити ВРХ, що народилась не раніше ніж через 2 роки після введення такої заборони за умови чіткого контролю за її виконанням.

**Профілактика губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби.** Обов'язкова ідентифікація (нумерація) всієї ВРХ незалежно від віку і виду господарств (приватні, державні, колективні), яка дасть змогу здійснювати контроль за переміщенням кожної тварини з моменту її народження до забою.

Забороняється виготовлення тваринного борошна з трупів жуйних тварин. Забороняється згодовування жуйним тваринам продуктів, які містять у собі протеїни (за винятком молока та молочних продуктів, жирів з тканин птиці та риби, а також складників комбікорму, які містять у собі ці окремі кормові добавки).

Для цього: комбікорми, до складу яких входить тваринне борошно, для птиці та риби виготовляються на окремих технологічних лініях; транспортування кормів, до складу яких входить тваринне борошно, здійснюється окремим транспортом; державні лабораторії ветеринарної медицини проводять дослідження кормів, комбікормів та кормових добавок для тварин (крім птиці та риби) на наявність у них білків жуйних та компонентів тваринного походження.

Забороняється згодовувати телятам замітник молока, у якому міститься тваринний жир з тканин жуйних тварин. Забороняється згодовувати дорослій ВРХ тваринний жир з тканин жуйних тварин.

*Заходи профілактики на м'ясокомбінатах і забійних пунктах:* – забороняється забивати здорову ВРХ та тварин з групи ризику на одних забійних пунктах; – забороняється забивати ВРХ шляхом руйнування мозку (стилєтом через верхній потилично-атлантичний отвір). Оглушення тварин здійснюється електричним струмом або пневматичним пристроєм; – забороняється використовувати тканини ризику (головний та спинний мозок, очі, мигдалики від ВРХ) як харчові продукти для людей. Тканини ризику повинні видалятися на забійних пунктах і м'ясокомбінатах під наглядом представника державної служби ветеринарної медицини. Тканини ризику слід видалити методом, безпечним для здоров'я людей. Тканини ризику: від тварини групи ризику віком до 12 місяців відбирають головний мозок та кишківник повністю (від дванадцятипалої кишки до прямої кишки); віком старше 12 місяців – череп разом з головним мозком та очима, спинний мозок, мигдалики та кишківник повністю; від доморощених тварин, старших 12 місяців, відбирають головний мозок, спинний мозок і очі. Якщо тканини ризику не видалені, то всю тушу вважають матеріалом ризику. Тканини ризику слід знешкоджувати спалюванням або іншим методом, що дає змогу знищити пріон.

Проводять обов'язкові дослідження у державній лабораторії ветеринарної медицини патологічного матеріалу від овець і кіз у разі їх загибелі чи забою, якщо хвороба супроводжувалась порушенням координації рухів, свербіжем, розчухуваннями, з метою виявлення скрепі.

Проводять моніторингові дослідження у державній лабораторії ветеринарної медицини з метою виявлення скрепі овець і кіз. Інспекторам ветеринарної медицини слід здійснювати постійний контроль за рухом імпортованого поголів'я ВРХ і його приплоду та переміщенням вищевказаної групи тварин територією України від дня завезення чи народження тварин до їх смерті.

***Протиенізоотичні заходи за підозри на губчасту енцефалопатію великої рогатої худоби.*** У разі виявлення у ВРХ клінічних ознак, характерних для губчастої енцефалопатії, симптомів ураження центральної нервової системи лікар ветеринарної медицини зобов'язаний повідомити державного інспектора ветеринарної медицини адміністративної території про підозру щодо захворювання тварин на *BSE*.

Головний державний інспектор ветеринарної медицини адміністративної території повідомляє Головного державного інспектора ветеринарної медицини України про підозру щодо захворювання тварин на *BSE* і встановлює *карантин* на 72 год (до встановлення діагнозу).

У разі виникнення підозри захворювання тварин на *BSE* центральний орган виконавчої влади з питань ветеринарної медицини формує спеціальну комісію, персональний склад якої затверджує керівник центрального органу виконавчої влади з питань ветеринарної медицини.

Тварин, підозрюваних у захворюванні, до приїзду спеціальної комісії відокремлюють від клінічно здорових тварин. Забороняється їх забивати, продавати та здійснювати будь-яке переміщення в іншу місцевість. Лікування таких тварин категорично забороняється. Забороняється використовувати від них будь-яку продукцію (молоко, сперму, ембріони, яйцеклітини тощо).

Спеціальна комісія клінічно досліджує весь гурт, де виявлені підозрілі на *BSE* тварини, і проводить епізоотологічний аналіз з метою визначення джерела інфекції. Підозрілих у захворюванні тварин умертвляють безкровним методом, мозок направляють на лабораторне дослідження до референс-лабораторії для підтвердження діагнозу. Решту частин тіла і залишки від тварин спалюють.

**Вимоги щодо ліквідації губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби.** Після підтвердження діагнозу рішенням місцевої державної надзвичайної протиепізоотичної комісії при Раді міністрів Автономної Республіки Крим, обласних, Київській та Севастопольській міських, районних державних адміністраціях та міських радах установлюється *карантин* на неблагополучне господарство, категорично забороняється будь-яке перегрупування жуйних тварин без дозволу головного державного інспектора ветеринарної медицини адміністративної території.

Спеціальною комісією проводиться розслідування причин виникнення *BSE* у господарстві та визначення заходів з ліквідації хвороби.

Весь приплід, який народився від хворих корів, забивається та спалюється. Мозок від тварин з цього приплоду, старших за 24 місяці, направляється на лабораторне дослідження.

Усіх тварин з неблагополучного стада забивають та спалюють. На лабораторне дослідження направляють мозок від забитих тварин, старших за 24 місяці.

Яйцеклітини й ембріони, отримані від корів, хворих на *BSE*, знищуються (спалюються).

Сперма, отримана від бугаїв, хворих на *BSE*, знищується (спалюється). До групи ризику відносять тварин, яких запліднювали спермою бугаїв, а також приплід, отриманий від цих бугаїв.

Зняття карантину відбувається після знищення всього стада і завезення здорових тварин з благополучних господарств. Завезені тварини належать до групи ризику. Для транспортування хворих або підозрілих у захворюванні тварин, трупів та тканин ризику використовують спеціальний транспорт. Забій хворих та підозрілих у захворюванні тварин безкровним методом здійснюється на спеціально відведених бойнях або забійних пунктах.

**Нагляд за великою рогатою худобою, яка належить до групи ризику.** До групи підозрілих у захворюванні належать: трупи тварин старше 24-місячного віку, у яких перед смертю чи забоєм реєстрували ураження центральної нервової системи.

До групи ризику належать: трупи і вимушено забиті тварини старше 24 місячного віку; імпортовані тварини незалежно від того, з якої країни вони завезені (з незначним, контрольованим чи невизначеним ризиком щодо *BSE*), та їх приплід; тварини, завезені на ферму після знищення неблагополучного стада; тварини, що були в неблагополучному господарстві (фермі) у період 12 місяців до і 12 місяців після народження хворої тварини і реалізовані (переведені) в інші господарства (ферми).

Від вимушено забитих тварин, у яких реєстрували симптоми захворювання центральної нервової системи, у віці, старшому за 24 місяці, а також від трупів (якщо перед смертю тварин діагностували симптоми захворювання центральної нервової системи і вони загинули у віці, старшому за 24 місяці) відбирають проби мозку для лабораторних досліджень та знищують (спалюють) туші чи трупи цих тварин і їх залишки незалежно від результату (позитивного чи негативного) лабораторного дослідження.

Від тварин, молодших за 24 місяці, яких забивали із симптомами розладу центральної нервової системи, знищують усі тканини ризику (головний і спинний мозок, очі, мигдалики, лімфатичні вузли, селезінку, весь кишківник, тимус, підшлункову залозу, кістковий мозок, печінку, легені), у разі негативних результатів лабораторних досліджень м'ясо після термічної обробки (температура 135°C, тиск водяної обробки 3 атмосфери, час – 30 хв) використовують для годівлі м'ясоїдних тварин (за винятком норок і котячих).

Від вимушено забитих тварин у віці, старшому за 24 міс, а також від трупів тварин, які загинули у віці, старшому за 24 міс, відбирають проби мозку для лабораторних досліджень.

Від тварин, які завезені на ферму після знищення неблагополучного поголів'я, за їх забою або смерті у віці, старшому за 24 міс, відбирають проби мозку для лабораторних досліджень.

Від тварин, які перебували в господарстві (фермі) у період 12 міс до і 12 міс після народження хворої тварини і були реалізовані (переведені) в інші господарства (ферми), у разі забою або після смерті у віці, старшому за 24 міс, відбирають проби мозку для лабораторних досліджень.

Від тварин, імпортованих в Україну, незалежно з яких країн вони завезені (благополучних чи неблагополучних), за їх забою або після смерті у віці, старшому за 24 міс, відбирають проби мозку для лабораторних досліджень.

Після забою тварин групи ризику й отримання негативного результату досліджень відбирають тканини ризику (череп разом з головним мозком і очима, мигдалики, спинний мозок у тварин, старших за 12 міс, кишківник від дванадцятипалої кишки до прямої кишки від усіх вікових категорій ВРХ) для знищення, а м'ясо використовують без обмежень.

Використання гною, гноївки, перегною як органічного добрива від ВРХ з господарств, де тримають тварин групи ризику, дозволяється без застережень.

Дозволяється використовувати без застережень шкіри, роги, копита після забою клінічно здорових тварин групи ризику і за отримання негативного результату лабораторних досліджень.

Дозволяється використовувати без застережень уміст передшлунків, сичуга і кишківника, калові маси, сечу, жовч після забою клінічно здорових тварин групи ризику і в разі отримання негативного результату лабораторних досліджень.

Виготовлення тальку та фармацевтичного желатину з тканин ВРХ групи ризику дозволяється лише тоді, коли такі тварини забивалися клінічно здоровими та посмертний лабораторний діагноз був негативний.

#### ***Зняття карантину з господарств (неблагополучних пунктів).***

Оздоровленим від *BSE* вважається господарство (неблагополучний пункт), на території якого протягом семи років після знищення останньої хворої тварини не було зареєстровано жодного випадку ГЕ ВРХ.

Карантин з неблагополучного господарства (пункту) знімається за результатами перевірки проведення оздоровчих заходів спеціальною комісією, призначеною Державним комітетом ветеринарної медицини України.

Основним бар'єром на шляху підвищення експортного потенціалу вітчизняних виробників яловичини є невизначений статус України щодо губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (ГЕ ВРХ). Тому з квітня 2017 року в Україні запроваджено Програму визначення статусу України як країни з контрольованим ризиком щодо губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (наказ Держпродспоживслужби від 14.04.2017 р. № 258), яка передбачає реалізацію низки додаткових заходів, спрямованих на: – проведення аналізу ризиків з метою визначення потенційних факторів появи ГЕ ВРХ; – здійснення активного та пасивного нагляду за ГЕ ВРХ, який ґрунтується на проведенні державного контролю за популяцією ВРХ та проведенні моніторингу серед цільових груп тварин, що оцінюватиметься в балах, відповідно до нагляду типу А, проведеного згідно з вимогами МЕБ; – проведення офіційного контролю кормів для продуктивних тварин з метою ідентифікації компонентів тваринного походження; – запобігання занесенню збудника на територію України та діагностування хвороби.

У людей профілактують варіантну форму хвороби Крейцфельда-Якоба забороною вживання в їжу тканин від тварин, інфікованих *BSE* або потенційно інфікованих *BSE*. В багатьох країнах м'ясо від тварин з клінічними ознаками, характерними для *BSE* (наприклад, неврологічні ознаки, падіж худоби) заборонене для використання в їжу людям. Тканини, які мають високий ризик передачі *BSE* у великої рогатої худоби (матеріали певного ризику або *specified risk materials* – *SRM*), в багатьох країнах більше не допускаються в харчовий ланцюг людини. До таких тканин належать головний і спинний мозок, пов'язані з ними кістки й деякі пов'язані з ними нервові ганглії; мигдалики; і різні частини спинного мозку (наприклад, нині дистальна клубова кишка в США й останні 4 метри тонкої кишки, ободова кишка й брижі в Європейському Союзі). Спостереження за тваринами під час забою з використанням експрес-тестів може допомогти запобігати потраплянню м'яса заражених тварин в харчові продукти людини. Хоча більшість дослідників не вважають, що м'ясо становить небезпеку, воно може бути забруднене пріонами із неврологічних або лімфоїдних тканин ШКТ під час перероблення). Методи забою й перероблення, які мають високий ризик забруднен-



ня м'язових тканин пріонами тканин ЦНС (наприклад, механічно відділене м'ясо), були заборонені в багатьох країнах. В Європейському Союзі окремі правила забою нині застосовуються до овець і кіз, а також до великої рогатої худоби (Richt J.A. et al., 2007; Fast C. et al., 2013; Seuberlich T., 2014; OIE, 2007, 2016).

Спеціальні методи знезараження пріонів або використання одноразових хірургічних інструментів можуть знизити ризик передачі пріонів від людини до людини під час операцій. Окрім ризиків, пов'язаних з неврологічними тканинами в підозрюваних у захворюванні на *vCJD*, існує небезпека, що у деяких людей з безсимптомними формами перебігу пріони *BSE* можуть знаходитися в таких тканинах, як апендикс або мигдалики. Передача інфекції з донорською кров'ю не може бути повністю попереджена за допомогою методів що існують; однак багато країн обмежують донорство крові від людей зі значними ризиками зараження під час епідемій *BSE*. Деякі країни прийняли й інші заходи, такі як загальна лейкодеплеція крові, щоб знизити ризик зараження збудником хвороби Крейцфельда-Якоба. Для зниження інфекційності плазми крові були розроблені пріонні фільтри, однак вони ще знаходяться на стадії оцінки й не отримали широкого застосування. Деякі країни імпортують свіжозаморожену плазму крові з країн із низьким ризиком для пацієнтів, що не піддавалися харчовому впливу *BSE* (наприклад, пацієнти, що народилися після 1996 року у Великобританії) (Diack A.V. et al., 2014; Seuberlich T., 2014).

Хоча про випадки, пов'язані з лабораторіями або бойнями, не повідомлялося, ветеринари і працівники лабораторій повинні завжди дотримуватися запобіжних заходів і використовувати засоби захисту під час проведення некропсій у підозрюваних в зараженні *BSE* або під час роботи з тканинами; рівень захисту, що рекомендується – *BSL-3*. Оскільки пріони можуть зберігатися в зовнішньому середовищі протягом багатьох років і важко піддаються дезінфекції, слід за можливості уникати забруднення поверхонь і устаткування. Для захисту столів і інших поверхонь можна використовувати одноразові паперові листи з пластиковим покриттям. Можна також використовувати одноразові інструменти й робочий одяг (Seuberlich T., 2014; CFIA, 2015; CDC, 2015; OIE, 2007, 2016).

### ***Державний контроль виробництва продукції щодо BSE в Україні.***

Для допуску іноземних товарів на свій ринок компетентний орган України в обов'язковому порядку проводить оцінку системи державного контролю виробництва, інспекцію безпосередньо самих

підприємств на предмет дотримання законодавства та чинних вимог імпортера.

На основі оцінки системи державного контролю виробництва імпортера, а також інспекції підприємств розробляються та погоджуються міжнародні сертифікати, які призначені для супроводження продуктів та тварин під час ввезення (пересилання) на митну територію України. Відповідно до Наказу Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства від 14 липня 2020 року №1329 затверджено 72 форми міжнародних сертифікатів. Кожна окрема форма міжнародного сертифіката призначена для тварин та окремої товарної групи.

Важливою умовою для імпорту BPX та продуктів з неї є наявність статусу в країні-імпортера щодо *BSE* в класифікації МЕБ (*WOAH; World Organisation for Animal Health, founded as OIE*) (*незначний, контрольований, невизначений*). Однією з вимог визначення статусу є приналежність країни претендента до членів *WOAH*. Для визначення статусу надається пакет нормативних документів у *WOAH* за останні 8 років, які підтверджують: – контроль за імпортом тварин, продукції з них, а також кормів та кормових інгредієнтів; – контроль за переміщенням тварин, виробництвом та обігом харчових продуктів та кормів в Україні; – контроль імпорту, простежуваності та утилізації побічних продуктів тваринництва; – ефективність і вірогідність активного та пасивного нагляду щодо *BSE*; – проведення щорічної оцінки ризиків занесення та поширення *BSE* на території країни тощо; – впровадження і контроль ефективності дотримання законодавчої бази.

Контроль *BSE* в Україні регламентується наступними нормативно-правовими документами: ЗУ “Про ветеринарну медицину”; ЗУ “Про побічні продукти тваринного походження, не призначені для споживання людиною”; ЗУ “Про безпечність та гігієну кормів”; ЗУ “Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів”; ЗУ “Про державний контроль за дотриманням законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження, ветеринарну медицину та благополуччя тварин”; ЗУ “Про ідентифікацію та реєстрацію тварин”; Указ Президента України від 22 березня 2001 року № 192/2001 “Про невідкладні заходи щодо забезпечення стабільної епізоотичної ситуації в Україні”; Наказ Держкомветмедицини від 04.09.2008 № 180 “Про затвердження Інструкції щодо діагностики, профілактики та боротьби з губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби”, зареєстровано в Міністерстві юстиції

України 20 жовтня 2008 р. за № 994/15685; Наказ Мінагрополітики від 16.11.2018 № 553 “Про затвердження Вимог щодо ввезення (пересилання) на митну територію України живих тварин та їхнього репродуктивного матеріалу, харчових продуктів тваринного походження, кормів, сіна, соломи, а також побічних продуктів тваринного походження та продуктів їх оброблення, перероблення”, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 04 квітня 2019 р. за № 346/33317; Наказ Мінагрополітики від 07.03.2018 № 130 “Про затвердження уніфікованої форми акта, що складається за результатами проведення планового (позапланового) заходу державного нагляду (контролю) щодо додержання суб’єктом господарювання вимог законодавства у сфері ветеринарної медицини”, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 27 березня 2018 р. за № 366/31818.

В Україні контроль та нагляд за BSE проводиться на *місцевому* (підприємства – офіційні лікарі ветеринарної медицини; населені пункти – дільничні лікарі, дільниці/дільничні лікарні; пункти пропуску на кордоні – прикордонні державні ветеринарні інспектори); *районному* (державні районні лікарні ветеринарної медицини, управління Держпродспоживслужби в районах, міжрайонні управління Держпродспоживслужби, районні/міжрайонні державні лабораторії ветеринарної медицини), *обласному* (головні управління Держпродспоживслужби в областях, м. Києві, обласні державні лікарні ветеринарної медицини, регіональні державні лабораторії Держпродспоживслужби, міжрегіональні головні управління Держпродспоживслужби на державному кордоні), *національному рівні* (Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів, Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Державне підприємство “Агентство з ідентифікації й реєстрації тварин”, Державне підприємство “Укрветсанзавод”, Державний науково-контрольний інститут біотехнології й штамів мікроорганізмів, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів і кормових добавок).

### ***Ввезення (пересилання) на митну територію України живих тварин.***

Умови імпорту живої племінної й користувальної ВРХ викладені у Наказу Мінагрополітики від 16.11.2018 №553 “Про затвердження Вимог щодо ввезення (пересилання) на митну територію України живих тварин та їхнього репродуктивного матеріалу, харчових продуктів тваринного походження, кормів, сіна, соломи, а також побічних продуктів

тваринного походження та продуктів їх оброблення, перероблення”, де зазначено: 1) дозволено ввозити тварин, які походять із країни або зони з “незначним” або “контрольованим” статусом щодо BSE; 2) за умови ввезення із країни або зони з “невизначеним” статусом, дозвіл надається за умови: – інспектування компетентним органом потужності, яка проводить імпортування тварин; – на території зазначеної країни або зони має діяти заборона на годування тварин м’ясо-кістковим борошном та шкварками, отриманими з жуйних тварин; – чітко проводиться ідентифікація поголів’я, що дає можливість встановити родовід та господарство (стадо) походження.

Ввезення на митну територію України живих тварин (крім домашніх, спортивних, експериментальних, циркових тварин, а також тварин, призначених для виставок та розважальних цілей), їхнього репродуктивного матеріалу можливе із потужностей (об’єктів), за результатами оцінки яких встановлено відповідність законодавству України або укладено договір з країною-імпортером про еквівалентність законодавства.

Під час ввезення живих тварин та їхнього репродуктивного матеріалу на митну територію повинні виконуватись наступні вимоги: 1) живі тварини повинні бути ідентифікованими; 2) господарство походження тварин має бути внесено до реєстру країн та потужностей, з яких дозволяється ввезення (пересилання) продуктів на митну територію України, після відповідного інспектування з боку Держпродспоживслужби. Під час такого інспектування на місці вивчаються питання щодо умов утримання тварин, відстежуваності та дотримання заборони на згодовування жуйним тваринам корму, що містить білок жуйних; 3) живі тварини не повинні бути призначені для забою в рамках програми боротьби з інфекційними хворобами тварин.

У період карантинування державним ветеринарним інспектором країни-експортера/країни походження здійснюється клінічний огляд тварин та проводяться діагностичні дослідження.

Вантажі з живими тваринами та репродуктивним матеріалом, що ввозяться на митну територію України, повинні супроводжуватись оригіналами міжнародних ветеринарних сертифікатів.

Вантажі з живими тваринами та їхнім репродуктивним матеріалом, що ввозяться на митну територію України, підлягають державному ветеринарно-санітарному контролю на державному кордоні України та транспорті. Відбір для відправлення в Україну тварин здійснювався за участю представника державної служби ветеринарної медицини України. Відібрані для відправлення в Україну твари-

ни генетично не пов'язані з худобою, яка походить з територій, неблагополучних щодо губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби, не одержували корми тваринного походження, під час виготовлення яких використовувалися внутрішні органи й тканини жуйних тварин.

Забійні тварини направляються безпосередньо до бійні призначення, де вони мають бути забиті протягом п'яти робочих днів. Живі тварини, що не є забійними, мають бути направлені на карантинування на території України.

***Ввезення на митну територію України забійної великої рогатої худоби.***

Допускається ввозити на митну територію клінічно здорову забійну ВРХ, яка не є вагітною та дала потомство за тиждень до відправлення. Забійна ВРХ походить з території або зони із *незначним/контрольованим/невизначеним* ризиком щодо губчастої енцефалопатії ВРХ відповідно до вимог Кодексу здоров'я наземних тварин МЄБ.

Ввезення тварин з території країни або зони із невизначеним ризиком щодо губчастої енцефалопатії ВРХ можливе у випадку проведення компетентним органом України інспектування потужності (об'єкта) походження зазначених тварин та проведення оцінки ефективності компетентного органу країни-імпортера. Особлива увага приділяється питанням: – дія заборони на годування тварин м'ясокістковим борошном та шкварками, отриманих з жуйних тварин; – ідентифікація та можливості прослідкування батьківського поголів'я, господарства (стадо), походження; – наявність контактів з зараженими на губчасту енцефалопатію ВРХ; – дія програми моніторингу та нагляду; – заборона годування, протягом щонайменше останніх семи років, м'ясокістковим борошном або шкварками, отриманими з жуйних тварин.

Якщо в країні-імпортері було зафіксовано ендемічні випадки губчастої енцефалопатії ВРХ, ввезення може бути дозволене на територію України за умови, якщо імпортована тварина народжена після щонайменше двох років з дати введення заборони на годування жуйних тварин м'ясокістковим борошном та шкварками, або щонайменше двох років з дати народження останньої тварини, зараженої губчастою енцефалопатією ВРХ.

Забійні ВРХ з моменту народження або протягом трьох останніх місяців перед відправленням утримувались в країні походження. Забійні ВРХ з моменту народження або протягом останніх 40 днів перед відправленням утримувались в господарстві походження.

***Вимоги щодо губчастої енцефалопатії ВРХ під час ввезення (пересилання) на територію України продуктів тваринного походження виготовлених з ВРХ.***

Згідно з законодавством України дозволено ввозити на митну територію продукти тваринного походження отримані від ВРХ з території країни або зони з *незначним/контрольованим/невизначеним* ризиком щодо губчастої енцефалопатії ВРХ: – свіже м'ясо; – подрібнене (січене) м'ясо; – м'ясо механічного обвалювання (ММО); – м'ясні напівфабрикати; – м'ясні продукти; – топлєні тваринні жири; – шкварки; – желатин, відмінний від желатину, отриманого зі шкір та шкур; – колаген, – відмінний від колагену, отриманого зі шкір та шкур; – оброблені шлунки, міхури та кишки.

До *“матеріалів ризику”* належать: 1) череп, за винятком нижньої щелепи, разом із головним мозком і очима, а також спинний мозок тварин віком старше 12 місяців; 2) хребет тварин віком старше 30 місяців, за винятком хребців хвоста, остистого відростка та поперечного відростка шийного, грудного та поперекового відділів хребта, серединного крижового гребеня та крижових крил, разом із дорсальними корінцевими гангліями; 3) мигдалики, останні чотири метри тонкого кишківника, сліпа кишка та мезентерій тварин будь-якого віку.

Під час ввезення на митну територію України харчових продуктів тваринного походження з країни або зони з *незначним/контрольованим/невизначеним* ризиком щодо губчастої енцефалопатії ВРХ: 1) ВРХ повинна піддаватись передзабійному та післязабійному огляду, не повинна глушитись шляхом введення газу в порожнину черепа та не повинна бути забита шляхом розривання тканин центральної нервової системи; 2) продукти не повинні містити ризикований матеріал (матеріал ризику), окрім хребетного стовпа, включаючи дорсальний корінцевий ганглій. Туші, напівтуші, четвєртини мають бути ідентифіковані; 3) тварин, з яких отримано оброблені кишки, мають бути народжені, вирощєні та забиті на території країни чи зони, які є країною або зоною з незначним ризиком щодо губчастої енцефалопатії ВРХ; 4) у випадку ввезення (пересилання) на митну територію України оброблєних кишок, сировина для виробництва яких отримана на території країни, де було зафіксовано ендемічні випадки губчастої енцефалопатії ВРХ, тварини, з яких отримано сировину, повинні бути народжені після дати введення заборони на годування жуйних тварин м'ясо-кістковим борошном та шкварками, отриманими із жуйних тварин; не містити та не є отриманими з ризикового матеріалу.

***Ввезення на митну територію України кормів, побічних продуктів тваринного походження та продуктів їх перероблення.***

Продукти тваринного походження, призначені для годування жуйних, молоко або молочні продукти, дозволяється отримувати від тварин, які не менше останніх трьох років утримувались у господарстві, до якого не було обмежень, пов'язаних із губчастою енцефалопатією і господарство останні 3 роки піддавалось регулярному інспектуванню державним ветеринарним інспектором. Продукція повинна зберігатись у спосіб, що забезпечує уникнення контамінації збудниками інфекційних хвороб. Побічні продукти у своєму складі не повинні містити “матеріалу ризику” м'яса механічного обвалювання (ММО) із кісток ВРХ, які піддавались забою методом розривання тканин центральної нервової системи.

Введення в обіг та продаж кормових добавок, кокцидіостатиків та гістомоностатиків, а також кормових добавок, які містять або виготовлені з генетично модифікованих організмів, дозволяється виключно за умови реєстрації в Україні.

Не зареєстровані в Україні кормові добавки дозволяється ввозити з метою: 1) державної реєстрації на території України; 2) презентації (демонстрації) на ярмарках, виставках, конференціях, інших публічних заходах; 3) наукових досліджень; 4) для внутрішніх потреб оператора ринку, для розробки нових кормів, без введення в обіг.

***Система контролю за ГЕ ВРХ на території України.***

Визначення статусу країни щодо ГЕ ВРХ, відповідно до вимог МЄБ, вимагає реалізації заходів, спрямованих на оцінку ризику появи ГЕ ВРХ, дієвого епізоотичного нагляду, діагностування хвороби та заходів щодо запобігання занесення збудника на територію України.

Статус країни, або регіону щодо ГЕ ВРХ визначається на підставі наступних критеріїв.

***1) Ефективна ідентифікація поголів'я.*** Відповідно до Закону України “Про ідентифікацію та реєстрацію тварин” 1445-VI (далі – Закон 1445-VI) об'єктом ідентифікації та реєстрації є сільськогосподарські тварини – велика рогата худоба, коні, свині, вівці, кози. Цей Закон визначає засади для надійної інформації про поголів'я тварин щодо статі, віку, породи та знаходження, поліпшення контролю за епізоотичною ситуацією в Україні. В рамках цього Закону особи, які провадять діяльність з розведення та утримання тварин незалежно від форми власності, зобов'язані: – ідентифікувати поголів'я; – вести облік

щодо народження, ідентифікаційних номерів, переміщень тварин між господарствами, забій, утилізацію та падіж тварин; – проводити забій, утилізацію лише ідентифікованих та зареєстрованих тварин; – зберігати відомості про тварину протягом трьох років після її смерті (забій, падіж, утилізація) або переміщення її з господарства.

2) **Наявність системи простежуваності.** Відповідно Регламенту (ЄС) № 178/2002, простежуваність дає можливість простежити ланцюг виготовлення на всіх стадіях виробництва, перероблення й розповсюдження харчових продуктів, кормів, тварин.

3) **Щорічний аналіз ризиків потенційних факторів виникнення ГЕ ВРХ в країні, впровадження належних заходів для управління визначеними ризиками.** Якісна оцінка ризику потенційних факторів виникнення ГЕ ВРХ в країні проводиться щороку компетентним органом відповідно до методології Кодексу здоров'я наземних тварин, шляхом збору та аналізу необхідних даних, розробки шляхів ризику, незалежної експертної оцінки кожного кроку шляху ризику. Під час оцінки ризику занесення збудника ГЕ ВРХ в Україну розглядають ймовірність занесення збудника через імпорт: – живих жуйних; – м'ясо-кісткового борошна і білкових брикетів; – кормів та кормових інгредієнтів; – харчових продуктів.

4) **Здійснення активного та пасивного нагляду за ГЕ ВРХ, який базується на проведенні державного контролю за популяцією ВРХ та проведення моніторингу серед цільових груп тварин, результати яких задокументовані та зберігаються компетентним органом щонайменше 7 років.** Компетентний орган щорічно організовує та проводить моніторинг ГЕ ВРХ на основі даних активного та пасивного нагляду. Розмір вибірки для проведення лабораторних досліджень формується залежно від кількості забитого поголів'я ВРХ в регіоні старше 30 місяців. *Активний нагляд* за ГЕ ВРХ направлений на виявлення хворих тварин у стані інкубаційного періоду серед клінічно здорової ВРХ, дає змогу запобігати надходженню інфікованого пріоном м'яса та м'ясних продуктів у харчовий продукт. *Пасивний нагляд* орієнтований на проведення клінічного обстеження великої рогатої худоби у господарствах та перед забоєм для виявлення клінічних ознак ГЕ ВРХ. Нагляд та моніторинг за ГЕ ВРХ формується за принципом від формування плану епізоотичної одиниці з якої формується план протиепізоотичних заходів району та відповідно план області і України в цілому. У рамках моніторингу здійснюється моніторинг серед таких груп тварин: 1) ВРХ з клінічними ознаками хво-



роби, яка за віком старше 30 місяців; 2) ВРХ з порушеною координацією рухів, яка лежить, не спроможна піднятися або рухатися без допомоги та старше 30 місяців, яку відправили на вимушений забій або у якої під час передзабійного огляду було виявлено нетипові ознаки – дослідженню підлягають усі тварини зазначеної категорії; 3) ВРХ, що була забита на фермі (господарстві) віком старше 30 місяців, не для споживання людиною; 4) ВРХ старше 36 місяців у разі забою за звичайних умов для споживання людиною – дослідженню підлягають усі тварини зазначеної категорії. Особливо відстежуються імпортовані тварини незалежно від країни вони ввезені і відповідно їх приплід від зазначених тварин. Відбір зразків здійснюється щонайменше трьох з чотирьох груп поголів'я. На вимогу МЕБ, для досягнення цільового показника загальний сумарний показник щодо відібраних зразків підраховується за період, що не перевищує 7 послідовних років.

Відповідно до звітів Держпродспоживслужби форми 2-ВЕТ здійснення активного та пасивного спостереження за ГЕ, ґрунтується на проведенні державного контролю за популяцією ВРХ та проведення моніторингу серед цільових груп тварин та оцінці в балах відповідно вимог МЕБ.

Таблиця 8 – Інформація про дослідження на ГЕ ВРХ у 2021 році по групах та віковим категоріям тварин

<b>Група 4</b> Тварини старше 30 місяців, що має ознаки змін у поведінці або клінічні ознаки ГЕ ВРХ (тварини з клінічною підозрою)						
Вік тварин (місяці) )/к-сть балів						
>12-24/-	>24-48/260	>48-84/750	>84-108/220	>108/45	Загальна кількість досліджень	Балів
0	0	0	0	0	0	0
<b>Група 3</b> Тварини старше 30 місяців, яку відправили на вимушений забій або у якої під час передзабійного огляду було виявлено нетипові ознаки (забиті покалічені тварини або тварини піддані вимушеному забою)						
>12-24/0,4	>24-48/0,4	>48-84/1,6	>84-108/0,7	>108/0,2	278	273,5
0	76	133	33	36		
<b>Група 2</b> Тварини старше 30 місяців, що була забита на фермі (господарстві) не для споживання людиною, або загинула під час транспортування або на бійні (полеглі тварини)						
>12-24/0,2	>24-48/0,2	>48-84/0,9	>84-108/0,4	>108/0,1	2	1,8
0	0	2	0	0		
<b>Група 1</b> Тварини старше 36 місяців у разі забою за звичайних умов						
>12-24/0,01	>24-48/0,1	>48-84/0,2	>84-108/0,1	>108/0,0	20721	2775,89
49	4694	9770	3580	2628		

Таблиця 9 – Кількість лабораторних досліджень на ГЕ ВРХ за 2021 р.

Область, з якої надіслано матеріал	Кількість досліджень	
	ГЕ ВРХ	
	Заплановано	Досліджено
Вінницька	28580	1440
Волинська	2895	800
Дніпропетровська	1400	26
Донецька	90	7
Житомирська	11478	1427
Закарпатська	60	26
Запорізька	609	153
Івано-Франківська	6214	1 802
Київська	4090	1881
Кіровоградська	3800	758
Луганська	640	92
Львівська	3000	1 262
Миколаївська	426	11
Одеська	300	96
Полтавська	10900	4 070
Рівненська	7050	684
Сумська	10890	349
Тернопільська	16660	2 356
Харківська	725	-
Херсонська	878	125
Хмельницька	1750	-
Черкаська	9100	1702
Чернівецька	2544	674
Чернігівська	6000	1260
Всього:	130 079	21 001

**5) Заборонаю на згодовування жуйним тваринам і відповідно, наявність програм контролю обігу м'ясо-кісткового борошна або шкварок, отриманими із жуйних тварин. Зберігання звітності протягом щонайменше восьми років.**

На території України починаючи з 2001 року заборонено згодовування жуйним тваринам м'ясного, м'ясо-кісткового та кісткового борошна, що регламентувалось Наказом Головного державного інспектора ветеринарної медицини України від 12.03.2001 № 23, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 18 квітня 2001 р. за № 356/5547 “Про невідкладні заходи попередження і ліквідації проявів захворювання великої рогатої худоби на губчасту енцефалопатію та інші пріонні інфекції”. З метою підтвердження дії заборони щодо згодовування жуйним тваринам м'ясо-кісткового борошна здійснюється моніторинг кормів. Законом України “Про безпечність

та гігієну кормів” 2264-VIII передбачається використання операторами ринку системи роздавання кормів у господарствах, що унеможливають перехресне контамінування кормів та преміксів різними видами кормів; маніпуляції з кормами мають здійснюватись у спосіб, що запобігає їх забрудненню від забруднених зон зберігання та забрудненого обладнання; особлива увага приділяється забороні згодовування жуйним тваринам кормів, що містять тваринний білок жуйних тварин.

Об'єктами досліджень виступають: 1) корми для годування жуйних тварин; 2) інгредієнти, що використовуються для виробництва кормів; 3) імпортовані корми та інгредієнти, що застосовуються для виготовлення кормів для тварин.

Відповідно до чинної “Інструкції щодо діагностики, профілактики та боротьби з губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби” затверджена наказом Державного Комітету ветеринарної медицини України № 180 від 04.09.2008 р., заборонено: 1) виготовляти корми з трупів жуйних; 2) згодовувати жуйним тваринам продукти, які містять протеїни (окрім молока та молочних продуктів, жирів з тканин птиці та риб); 3) згодовувати телятам замінник молока, у якому міститься тваринний жир з тканин жуйних тварин; 4) згодовувати дорослій ВРХ тваринний жир з тканин жуйних тварин.

***б) Контроль за утворенням, збиранням, перевезенням, зберіганням, обробленням, утилізацією побічних продуктів тваринного походження, включаючи матеріал ризику.***

Відповідно, до Закону України “Про побічні продукти тваринного походження, не призначені для споживання людиною” тканини тваринного походження, що потенційно мають високий рівень ризику інфікування збудником ГЕ ВРХ (віком до 12 місяців – головний мозок та кишківник, 12 місяців і старші – череп разом з головним мозком та очима, спинний мозок, мигдалики та кишківник) називають *матеріалом ризику*. *Не призначені для споживання людиною побічні продукти тваринного походження* – сировина та продукти тваринного походження, туша або частини туш забитих чи загиблих тварин, що непридатні для споживання людиною.

Також Законом 287-VIII затверджено загальноосвітню категоризацію побічних продуктів тваринного походження за категоріями I-III залежно від ступеня ризику для здоров'я людини та тварини.

Побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії I, є: 1) туші та їх частини, у тому числі шкіра та шкури: – тварин, підозрюваних у зараженні трансмісивною губчастою ен-

цефалопатією, та тварин, у яких відповідно до вимог законодавства України встановлено наявність трансмісивної губчастої енцефалопатії; – тварин, забитих (загиблих) у результаті вжиття заходів з ліквідації губчастої енцефалопатії; – тварин, що використовуються для наукових цілей; – диких тварин, що підозрюються у зараженні хворобами, які передаються людям або тваринам; – домашніх тварин, тварин із зоопарку та цирку та інших тварин, крім тварин, вирощених на фермі, та диких тварин; 2) ризиковий матеріал та уся туша або частини туш загиблих тварин, в яких не видалено ризиковий матеріал на момент утилізації чи видалення; 3) побічні продукти тваринного походження, зібрані в результаті очищення стічних вод згідно з правилами вжиття ветеринарно-санітарних заходів з потужностей (об'єктів) з оброблення, перероблення побічних продуктів тваринного походження, що належать до категорії I, або підприємств, де видаляється ризиковий матеріал; 4) відходи закладів громадського харчування, які походять із транспортних засобів, за допомогою яких здійснюються міжнародні перевезення; 5) суміші побічних продуктів тваринного походження, що належать до категорії I, з побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії II та/або III; 6) побічні продукти тваринного походження, отримані від тварин, які були піддані обробці речовинами або іншими продуктами, не зареєстрованими відповідно до вимог законодавства про ветеринарну медицину та благополуччя тварин, для цілей та за умов, відмінних від визначених законодавством про ветеринарну медицину та благополуччя тварин; 7) побічні продукти тваринного походження, що містять залишки хлорорганічних сполук (включаючи поліхлоровані біфеніли (ПХБ), фосфорорганічних сполук, хімічних елементів, мікотоксинів, барвників, а також інших забруднювачів з навколишнього природного середовища, рівень вмісту яких перевищує максимально допустимі рівні, встановлені законодавством.

Побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії II, є: 1) туші та їх частини, крім зазначених у п 1 та 3 тварин, що загинули від інфекційних хвороб, у тому числі тварин, підозрюваних у зараженні та/або захворюванні, а також репродуктивний матеріал, не призначений для селекційних цілей, плоди, ембріони, відходи інкубації, отримані від таких тварин; 2) побічні продукти тваринного походження, що містять залишки речовин, зареєстрованих відповідно до законодавства про ветеринарну медицину та благополуччя тварин, та/або забруднювачі, крім зазначених у пункті

7 частини першої статті 11 Закону 287-VIII, які перевищують допустимий рівень, встановлений згідно із законодавством; 3) продукти тваринного походження, визначені непридатними для споживання людиною у зв'язку із зараженням інфекційними хворобами; 4) залишки, зібрані в результаті очищення стічних вод згідно з правилами вжиття ветеринарно-санітарних заходів з потужностей (об'єктів) з оброблення, перероблення побічних продуктів тваринного походження, що належать до категорії II, або з боєнь, крім тих, що є побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії I, або контактували з такими побічними продуктами тваринного походження; 5) продукти тваринного походження, які імпортовані/експортовані й не відповідають вимогам законодавства про харчові продукти, корми, побічні продукти тваринного походження; 6) гній, немінералізоване гуано і вміст травного тракту; 7) суміші побічних продуктів тваринного походження, що належать до категорії II, з побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії III; 8) побічні продукти тваринного походження, що не належать до категорії I та категорії II.

Побічними продуктами тваринного походження, що належать до категорії III, є: 1) туші та частини забитих тварин або, у разі мисливської здобичі, цілі впольовані тварини або їх частини, які придатні до споживання людиною відповідно до вимог законодавства України, але не призначені для споживання людиною у зв'язку з комерційними цілями; 2) туші та їх нижчезазначені частини, отримані з тварин, які були забиті на бійні та визнані придатними до забою для споживання людиною за результатами передзабійного огляду, проведеного відповідно до вимог законодавства про державний контроль, або цілі тварини та їх нижчезазначені частини, що є мисливською здобиччю, впольованою для споживання людиною відповідно до вимог законодавства: – туші тварин або частини тварин, що визнані непридатними для споживання людиною відповідно до вимог законодавства та щодо яких не виявлено ознак захворювання інфекційними хворобами, що можуть передаватися людині або тваринам; – голови свійської птиці; – шкіри та шкури, включаючи їх шматки та обрізки, роги та копита, включаючи фаланги, зап'ясткові та п'ясткові кістки, а також плеснові та передплеснові кістки, що отримані із тварин, інших ніж жуйні, які відповідно до вимог законодавства підлягають дослідженню на трансмісивну губчасту енцефалопатію, та із жуйних тварин, які досліджені на трансмісивну губчасту енцефалопатію з негативними результатами; – щетина свиней;

– пір'я; 3) побічні продукти тваринного походження, отримані під час виготовлення продуктів, призначених для споживання людиною, включаючи знежирені кістки, шкварки та шлам з центрифуги або сепаратора від перероблення молока; 4) нижчезазначений матеріал, отриманий із тварин, які не мали жодних ознак захворювань, що можуть передаватись людям або тваринам: – черепашки і панцирі молюсків та ракоподібних з м'якими тканинами або м'ясом; – матеріали, що отримані з наземних тварин: – побічні продукти з інкубатора, яйця, яйцепродукти, включаючи шкаралупи яєць; – добовий молодняк, забитий для комерційних цілей; 5) кров нижчезазначених тварин, які не виявляли ознак захворювання на хворобу, що може передаватися через кров людині або тваринам, які були забиті на бійні та за результатами передзабійного огляду, проведеного відповідно до вимог законодавства про державний контроль, визнані придатними до забою для споживання людиною відповідно до вимог законодавства України: – тварини, інші ніж жуйні, які відповідно до вимог законодавства підлягають дослідженню на трансмісивну губчасту енцефалопатію; – жуйні тварини, досліджені на трансмісивну губчасту енцефалопатію з негативними результатами; 6) кров, плацента, вовна, пір'я, шерсть, роги, частини копит і сире молоко, що отримані з живих тварин, які не виявляли ознак захворювання, що передається людині або тваринам; 7) водні організми (гідробіонти) та їх частини (крім морських ссавців), у яких не виявлено ознак захворювання інфекційних хвороб, що можуть передаватися людині або тваринам; 8) побічні продукти тваринного походження з водних організмів (гідробіонтів), які походять із потужностей, що здійснюють виробництво харчових продуктів; 9) туші та/або частини туш гризунів, зайцеподібних хутрових звірів, крім побічних продуктів тваринного походження, зазначених в абзацах четвертому - шостому пункту 1 частини першої статті 11 та пунктах 1-7 частини першої статті 12 Закону 287-VIII ; 10) корми тваринного походження, що не використовуються для годівлі тварин, у тому числі через проблеми виробництва або дефекти пакування чи інші дефекти, що не становлять ризику для людини або тварин; 11) продукти тваринного походження або харчові продукти, що містять продукти тваринного походження, які не призначені для споживання людиною у зв'язку з комерційними цілями або через проблеми виробництва, дефекти пакування чи інші дефекти, що не становлять загрози для здоров'я людини або тварин; 12) відходи закладів громадського харчування, крім відходів, що походять із транспортних засобів, за допомогою

яких здійснюються міжнародні перевезення; 13) жирова тканина тварин, які не мали жодних ознак захворювання на хвороби, що можуть передаватися людині або тваринам, які були забиті на бійні та за результатами передзабійного огляду, проведеного відповідно до вимог законодавства про державний контроль, визнані придатними до забою для споживання людиною; 14) водні організми (гідробіонти) та наземні безхребетні (крім видів, що є збудниками захворювань, які можуть передаватися людині або тваринам); 15) шкіри, шкури, копита, пір'я, шерсть, роги, щетина, хутро мертвих тварин, які не мали жодних ознак захворювання на хвороби, що можуть передаватися людині або тваринам, крім тварин, зазначених у пункті 2 цієї частини.

7) *Лабораторний контроль в акредитованих лабораторіях методами, які відповідають стандартам МЄБ. Зберігання компетентним органом результатів щонайменше 7 років;*

8) *Навчання лікарів ветеринарної медицини, фермерів, щодо порядку інформування про всі випадки появи клінічних ознак ГЕ ВРХ.*

## ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ВЕРБЛЮДІВ

Губчаста енцефалопатія верблюдів (*Diseases in Dromedary Camels*; абр. *CPD*) – пріонне захворювання, яке супроводжується виснаженням, відхиленнями поведінки, агресивністю та неврологічними ознаками (тремор, типові рухи голови вниз і вгору, хистка хода, атаксія задніх кінцівок тощо).

**Історична довідка.** Верблюд-дромадер (дромедар) або арабський верблюд (*Camelus dromedarius*) є одним з трьох уцілілих видів верблюдів у світі й становить 94% світової популяції верблюдів. Світова популяція обчислюється мільйонами голів, вони присутні в Північній і Східній Африці, на Близькому Сході, в частині Азії, а також в Австралії (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020; Northern Territory Government, 2015). В Австралії наявність цього виду пов'язана з імпортованими верблюдами, які спочатку завозились з Британської Індії та Афганістану для використання на транспорті та будівництві з середини XIX століття. Верблюд бактрійський (*Camelus bactrianus*), поширений переважно в Середній Азії, а дикий бактрійський верблюд (*Camelus ferus*), поширений у Північно-Західному Китаї та Монголії, інші два види родини *Camelidae* (Camel|Bactrian, Dromedary, Facts, 2021). Вони мають

надзвичайне значення завдяки своєму молоку та м'ясу, що є чудовим харчовим ресурсом у посушливих та напівпосушливих кліматичних регіонах (Hilbe M.M. et al., 2009).

*CPD* було виявлено вперше серед трьох голів верблюдів-дромадерів у Алжирі в 2018 р. (Babelhadj B. et al., 2018), а потім у Тунісі (одна тварина), в регіоні Татауїн, у 2019 р., хоча припускається наявність цього захворювання ще в 80-х роках ХХ століття (Babelhadj B. et al., 2021). Перші випадки захворювання серед верблюдів дромадерів (Південно-Східний Алжир) були ідентифіковані під час звичайного передзабійного огляду, коли цих тварин привезли для забою на одну з найбільших боень Алжиру Уаргла (Ouargla) (Babelhadj B. et al., 2018; World Organization for Animal Health, 2019). Тварини прибули на бійню з втратою маси тіла, відхиленнями в поведінці, а також неврологічними ознаками.

Дослідники припускають наявність цього захворювання з 1980-х років (Babelhadj B. et al., 2018).

**Характеристика збудника.** Характеристика  $PrP^{res}$  *CPD* не збігається з пріонами *scrapie* й *BSE*.

**Епізоотологічні відомості.** Уражені тварини мали генотип *PRNP*, який показував 100% ідентичність з послідовністю *PRNP*, про яку вже повідомлялося для верблюдів-дромадерів (Babelhadj B. et al., 2018). Вважалось, що хвороба виникла природно, без участі інших тварин як можливих джерел збудника інфекції. Крім того,  $PrP^{Sc}$  було виявлено в периферійних лімфоїдних тканинах, що спричинило занепокоєння в дослідників щодо можливої горизонтальної передачі останнього. Нині існує занепокоєння щодо поширеності цієї раніше нерозпізнаної трансмісивної губчастої форми енцефалопатії, й розпізнавання випадків буде ймовірно, збільшуватися як наслідок підвищеної обізнаності (Horigan V. et al., 2020). Припускають, що *CPD* може мати значний зоонозний потенціал, проте в цьому напрямі потрібні додаткові дослідження. Істотні обмеження в ресурсах, а також геополітична нестабільність у регіонах, які постраждали від *CPD* створюють серйозні проблеми; багато постраждалих країн цього не роблять й не мають національних програм нагляду за *CJD* (Watson N. et al., 2021).

**Клінічні ознаки.** Хвороба у верблюдів проявляється наступними неврологічними ознаками: тремор, агресивність, гіперреактивність, типові рухи голови вниз і вгору, невпевнена хода, атаксія задніх кінцівок, падіння й утруднення підйому з лежачого положення. Хвороба може тривати від 3 до 8 місяців. (Babelhadj B. et al., 2018).



**Патолого-анатомічні зміни.** Гістопатологія показала губчасті зміни, гліоз та втрату нейронів у тварин з клінічними ознаками захворювання. У нейропілі завжди спостерігалася вакуолізація, але її також можна знайти в тілах нейронів. Злиті вакуолі спостерігалися нечасто. Нейродегенеративні зміни відзначалися в сірій речовині підкіркових ділянок мозку (смугасте тіло, таламус, середній мозок і вароліїв міст), але нечасто зустрічалися в білій речовині. Кіркові ділянки мозку та мозочок були залучені неоднорідно, вакуолізацію виявляли в кінцевій частині мозку, пірiformній корі, лобній корі і лише в молекулярному шарі мозочка. У довгастому мозку губчастих змін не виявляли (Babelhadj B. et al., 2018).

В довгастому мозку спостерігалась помірна вакуолізація, особливо в вестибулярному ядрі і ядрах олив; ядра одинокого шляху й гіпогlossальні (під'язикові) ядра були уражені меншою мірою (Babelhadj B. et al., 2018).

Імуногістохімічне пофарбування показало відкладення  $PrP^{Sc}$ , пов'язане з вакуолізацією в областях, менше або взагалі не уражених спонгіозом, таких як ядро одиночного шляху, під'язикові ядра, пірамідні клітини гіпокампу, зернистий шар мозочка, клітини Пуркінє та деякі ділянки білої речовини.

Переважними виявленими типами  $PrP^{Sc}$  були інтранейрональні, інтрагліальні, синаптичні/пунктуаційні (еквівалент дрібнозернистого), перинейрональні, лінійні і периваскулярні. У мості (понсі)(ділянка стовбура мозку) і довгастому мозку, спостерігали атипичний внутрішньоклітинний малюнок, за якого  $PrP^{Sc}$  заповнював всю цитоплазму.  $PrP^{Sc}$  був відсутній у головному мозку дромадера, в якого не спостерігали симптомів захворювання (Babelhadj B. et al., 2018).

$PrP^{Sc}$  було виявлено в усіх лімфатичних вузлах, відібраних від однієї тварини, що свідчить про позанейронний патогенез й підтверджує потенційне виділення, яке може призвести до передачі між тваринами (Babelhadj B. et al., 2018).

Вестерн-блотинг показав, що  $PrP^{Sc}$  у верблюдів-дромадерів менш глікозилований, ніж за класичної форми скрепі. Він є моноглікозилованим домінантним  $PrP^{Sc}$  й має значно вищу молекулярну масу ніж пріони класичної форми скрепі, губчастої енцефалопатії, та пріона *BSE* адаптованого до організму овець (Babelhadj B. et al., 2018).

Походження *CPD* залишається невідомим, але воно може бути пов'язане з експортом м'ясо-кісткового борошна з країн, постраждалих від *BSE*, й контамінованого цим збудником. Однак дромедарів, як правило, не годують промисловими кормами. З іншого боку, цих тва-

рин часто випасають разом з вівцями і козами; відповідно, походження *CPD* може бути пов'язане зі скрепі. Однак в Алжирі відсутня програма спостереження за скрепі, й до цього часу на території цієї держави не зареєстровано жодного випадку скрепі. Щоб прояснити ці питання до кінця, проводяться біопроби на модельних гризунах для вичерпної характеристики штамів (Babelhadj B. et al., 2018).

**Профілактика і заходи боротьби.** Після виявлення цього нового захворювання МЕБ почало діяти, в напрямі вивчення його впливу на тварин й остаточного вирішення питання класифікації цього захворювання й збудника. З цією метою були проведені консультації з двома спеціальними групами, перша з яких займалась питаннями вивчення ризику можливості трансформації пріону *BSE* в організмі верблюдів, а інша група вивчала сприйнятливість до різних пріонів у верблюдів.

Обмежена кількість даних не дозволяє робити висновків щодо впливу збудника цього захворювання на організм інших тварин та людину. Однак у країнах, які мають значну кількість дромадерів має проводитись активний збір інформації необхідної для оцінки ризиків. Тривають два проєкти для скоординованого нагляду за *CPD*. Один має назву *CAMENET* (*Camel Middle East Network*), а інший – *EFRAN* (*Enhancing Research for African Network*) (Babelhadj B. et al., 2021; Orge L. et al., 2021).

## ЕКЗОТИЧНА ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ КОПИТНИХ

Починаючи з 1986 року, значна кількість випадків пріонної хвороби були зареєстровані у диких копитних (*EUE*). Більшість із них першопочатково були виявлені в антилоп, яких годували тим самим зараженим кормом, який спричинив захворювання в корів. Однак в декількох випадках хворобу спостерігали у тварин, народжених після повної заборони на використання тваринних субпродуктів в кормах для тварин.

Перший випадок у диких жуйних було зареєстровано в ньяли (*Tragelaphus angasi*) в 1987 році, приблизно в той самий час, що й *BSE*. Через рік хворобу було зареєстровано у гемсбока (*Oryx gazella*), а в 1988 р. – в арабського орикса (*Oryx leucoryx*) і великого куду (*Tragelaphus strepsicerosi*). Згодом декілька випадків цього захворювання було зареєстровано у канни (*Taurotragus oryx*) й однорогого орикса (Wilesmith J.W. et al., 1992; Kirkwood J.H. et al., 1990, 1994). Ці різні випадки спостерігались у тварин, які утримувалися в Лон-

донському зоопарку, або тварин, вивезених з Лондона в інші країни. В цілому клінічні ознаки включали порушення координації рухів, тремор, надмірне слиновиділення, втрату маси тіла, облизування губ, нахил голови в бік, сонливість, пригнічення, нечасто – агресивність.

Типові губчасті зміни виявлялись в головному мозку тварин (Kirkwood J.H. et al., 1990, 1994; Fatzner R., Vandeveldel M., 1998).

## КУРУ

Куру – це рідкісне, невиліковне та смертельне нейродегенеративне захворювання, яке раніше було поширеним серед людей племені форе (Нова Гвінея). Куру є формою трансмісивної губчастої енцефалопатії (*TSE*), яка виникає внаслідок споживання людьми білковомісних тканин, які включають аномально згорнуті білки (пріони). Хвороба супроводжується такими симптомами, як тремор і втрата координації внаслідок нейродегенерації.

**Історична довідка.** Це неврологічне захворювання зустрічалося винятково серед мешканців племен гірської місцевості Окапа і Форес (острови Папуа-Нова Гвінея), які характеризуються родинними зв'язками, в традиціях яких протягом багатьох років існував ритуальний канібалізм.

Існує гіпотеза згідно з якою захворювання серед ізольованого населення Нової Гвінеї походить від одного мешканця й почалося воно спонтанно, після споживання родичами органів загиблої людини. Згодом кількість контактів розширилася в межах цих племен (трансмісія збудника). D.K. Gajdusek і V. Zigas вперше описали це захворювання в 1957 році. Згодом D.K. Gajdusek et al. (1966) встановили інфекційну складову “хвороби канібалів” (куру) й відтворили захворювання на мавпах. Слово “куру” перекладається як “трясці, дрижання” або “пороблення”. Інша назва захворювання “смерть, що регоче” з'явилася завдяки журналістам газет. Серед канібалів захворювання мало назву *negi nagi* (дурна людина), що означало “з яких сміється смерть”. А вже в розвитку захворювання настає параліч окремих груп м'язів за якого на обличчі людини начебто проглядає посмішка. Іноді хвороба супроводжується посмикуванням голови й дивною “сардонічною” посмішкою, однак провідним симптомом є дрижання. Смерть настає приблизно через рік після першої реєстрації симптомів.

З припиненням канібалізму (заборона на рівні державних законів) нових випадків захворювання серед молодих людей не спостерігається, й нині ця хвороба становить більше історичний інтерес,

адже це була перша спонгіформна енцефалопатія, інфекційне походження якої було доведено шляхом зараження шимпанзе матеріалом із мозку хворих людей (Brown P., Gajdusek D.C., 1991).

**Епідеміологічні відомості.** Розповсюдження хвороби відбувалось через ритуальний канібалізм. Люди вживали в їжу мозок інфікованого або захворілого на куру, й заражались самі. Відмічалось деяке переважання частоти випадків куру у жінок і дітей (більше як у 5 разів, порівняно з чоловіками), що було пов'язано саме із традиціями ритуально канібалізму, коли жінки поїдали мозок померлих (чоловіки з'їдали переважно м'язові тканини) і отримували високу дозу *PrP<sup>Sc</sup>*. Крім того, чоловіки племені проживали окремо від жінок і дітей і були меншою мірою залучені в таких обрядах (Liberski P.P. et al., 2012). Із викоріненням канібалізму на законодавчому рівні (1956) захворювання практично зникло. Хоча й слід зазначити, що випадки захворювання реєструвались ще більш як 30 років (в окремих випадках інкубаційний період становив до 50 років). З часу описання хвороби від куру загинули більше як 2500 людей (приблизно 10% від загальної популяції утягнутих у цю ендемію племен) (Nonno R. et al., 2019; Bizzi A. et al., 2020; Minikel E.V. et al., 2016).

Дослідники припускали, що куру виникла після споживання мозкової тканини одного із померлих членів племені. Згідно з цією гіпотезою людина померла від *sCJD*; останнє підтверджується висновками про передачу куру (після експериментального зараження) і *sCJD* трансгенним мишам і мишам дикого типу (Wadsworth J.D. et al., 2008). Наймолодшому пацієнту, який захворів на куру було 5 років, а середній вік померлих у 1950-х роках становив приблизно 49 років. Вік смерті з часом збільшувався, і останнім пацієнтам в перші роки XXI століття було 60 років, з інкубаційними періодами близько 40 років (Collinge J. et al. 2008). Куру реєструвалася у пацієнтів з усіма генотипами кодона 129 *PRNP*; у гетерозиготних хворих інкубаційні періоди були більш триваліші, ніж у гомозиготних (Collinge J. et al. 2006).

В 2009 р. було встановлено, що деякі члени племені форе мають уроджений імунітет до куру, завдяки тому що в них з'явився (порівняно нещодавно) новий поліморфізм гену *PRNP* (Mead S. et al., 2009).

**Клінічні ознаки.** Початковими симптомами часто є головний біль і біль у суглобах. Згодом приєднується поступальна мозкова атаксія, яка супроводжується дизартрією, вираженими постуральним та кінетичним тремором, іноді окоруховими розладами, дисфагією, хореоатетозом, міоклонією, пірамідною недостатністю. Реєструються також когнітивні розлади, але деменція аж до пізньої стадії

не розвивається. Смерть настає в середньому через 1 рік, переважно від інтеркурентних інфекцій.

D.C. Gajdusek (1971) описав 3 основних стадії прогресування куру: 1-а (амбулаторна) стадія характеризується статичною і динамічною мозочковою атаксією, розладами ходи, дизартрією, тремором рук, посмикуванням очей (опсоклонус); 2-а (“сидяча”) стадія – хворий вже не може ходити без підтримки, більш тяжкі тремор і мозочкова атаксія, спостерігається емоційна лабільність, ейфорія, напади сміху, депресія і когнітивні розлади (важливо зазначити, що м’язова дистрофія не характерна для цієї стадії, сухожилкові рефлексії в нормі); 3-я (термінальна, “лежача”) стадія характеризується нездатністю пацієнта сидіти без підтримки, спостерігають жорстку статико-динамічну атаксію, виражений тремор, жорстку дизартрію, нетримання сечі й калу, дисфагію, глибокі виразки й пролежні. У людей, які страждають куру, поступово розвивається вегетативний стан або кома. Більшість хворих помирають від ускладнень, таких як сепсис на фоні ранової інфекції (пролежнів), аспіраційної пневмонії, голоду (Brandner S. et al., 2008).

**Патолого-анатомічні зміни.** Патоморфологія куру нагадує зміни за спорадичної хвороби Крейцфельда-Якоба (спонгіформна дегенерація, астрогліоз, амілоїдні бляшки), але відрізняється більш тяжким утягуванням мозочка, таламуса й мозкового стовбура й меншим ураженням кори великих півкуль, а також більш регулярними амілоїдними бляшками, які мають компактний моноцентричний характер (Neumann M.A. et al. 1964).

Для патоморфологічного дослідження беруть головний мозок, лімфоретикулярні тканини й внутрішні органи. Спонгіоз, синаптичне відкладання  $PrP^{Sc}$  й бляшки були виявлені як на рівні лобної кори й підкоркової сірої речовини великих півкуль (переважно в ділянці хвостатого ядра й таламуса), так і на рівні кори й підкоркової сірої речовини (переважно зубчастого ядра й оливи) мозочка. В цьому разі в мозочку переважали виражене синаптичне відкладання  $PrP^{Sc}$  й фібрилярний гліоз. Разом з тим Collinge J. et al. (2008) не виявили жодних доказів пріонної колонізації лімфоретикулярних тканин за куру, що збігається з негативними результатами біопсії мигдаликів піднебіння. Губчасті зміни виявляли переважно в корі головного мозку, базальних гангліях, таламусі і мозочку. В мозочку реєстрували найбільш значні ураження, із втратою нейронів, гліозом й вторинною дегенерацією білої речовини. Доступна лише дуже обмежена інформація про ізоформи  $PrP^{res}$  в мозку під час куру. Повідомлялося, що вони схожі на тип 2 ізоформи, виявленої за *sCJD* (Brandner S. et al. 2008).

## ХВОРОБА ГЕРСТМАНА-ШТРАУСЛЕРА-ШЕЙНКЕРА

Хвороба Герстмана-Штреуслера-Шейнкера (абр. назва: ХГШШ; *GSS*) – спадкова пріонна хвороба, яка передається за аутосомно-домінантним типом й становить собою варіант спиноцеребральної дегенерації, *GSS* виникає внаслідок патологічної мутації в гені пріонного білка (*PRNP*), розміщеному на 20-й хромосомі. Типовий синдром *GSS* включає виражену атаксію, порушення ходи, зниження когнітивних функцій і спастичність в нижніх кінцівках, паркінсонізмом (Farlow M.R. et al., 1989; Hsiao K. et al., 1989; Webb T.E. et al., 2008; Arata H. et al., 2006). Нечасто синдром може також характеризуватись болісною дизестезією і порушеннями зору, дистонією, міоклонусом і деменцією (Farlow M.R. et al., 1989; Piccardo P. et al., 1998; Webb T.E. et al., 2008; Yamada M. et al., 1999; Kovács G.G. et al., 2002; Zhao M.M. et al., 2019).

**Історична довідка.** Хвороба описана в 1936 році австрійськими лікарями Gerstmann, Sträussler, і Scheinker (Hainfellner J.A. et al., 1995). У 1991 р. Kretschmar H.A. et al. (1991) виявили мутацію *P102L* в гені *PRNP*. Не так давно хвороба вважалась виключно родинною, проте нині описані й спорадичні форми цього захворювання. Захворювання реєструється приблизно в 10 разів рідше, ніж хвороба Крейцфельда-Якоба. Хвороба пов'язана з мутаціями в гені, який кодує пріонний білок. Станом на 1999 р. за *GSS* було відомо 7 точкових мутацій і інсерцій гена *PRNP* (Zuev V.A. et al., 1999).

**Епідеміологічні відомості.** *GSS* в популяції реєструється з частотою 1–10 випадків на 100 млн людей (Liberski P.P., Budka H., 2004; Araújo A.Q., 2013; Chen C., Dong X.P., 2016). Вік початку *GSS* відносно ранній, але хвороба прогресує повільно, середня тривалість хвороби становить 49–57 місяців (до смерті)(Ben-Gedalya T., Cohen E., 2012; Kovács G.G. et al., 2005). Випадок *GSS*, пов'язаний з мутацією *A133V* в *PRNP*, призвів до незвичного фенотипу, аналогічного поступальному над'ядерному паралічу (Kretschmar H.A. et al., 1992). Було описано декілька інших патологічних варіантів, які спричинюють *GSS*. Найбільш розповсюдженою мутацією в *PRNP* є *P102L*, яка зустрічається більш ніж у 80% випадків (Rowe D.B. et al., 2007). Мутація *P102L* була виявлена у висхідному родоводі *GSS*. Інші мутації в *PRNP*, які, як відомо, спричинюють *GSS*, належать до *P105L*, *P105S*, *A117V*, *G131V*, *Y145*, *H187R*, *D202N*, *Q212P*, *Q217R*, *M232T* і пари основ вставки в положеннях 96, 192 або 216 (Hsiao K. et al., 1989; Kretschmar H.A. et al., 1991; Araújo A.Q., 2013; Will R.G., Ironside J.W., 2017).

Хвороба починається на 3-му або 4-му десятилітті життя і продовжується декілька років (в середньому 5 років). Тобто, синдром реєструють в людей віком 40–50 років. В характеристиці захворювання домінують мозочкова атаксія, розлади ковтання, дисфонія, деменція (тривалість 2–10 років) і загибель.

**Клінічні ознаки.** Початковими симптомами є мозочкові порушення, які домінують протягом усього захворювання, пізніше приєднується деменція, яка інколи може і не виявлятися. У розгорнутій стадії хвороби переважають мозочкові симптоми, але в деяких сім'ях провідними ознаками можуть бути екстрапірамідні порушення; в інших – “параліч погляду”.

Порушення вищих мозкових функцій здебільшого буває помірним, деменція розвивається лише на пізній стадії. У частини хворих описані екстрапірамідні або пірамідні розлади, аміотрофії й фасцикуляції, глухота й сліпота. Можливе ураження інших черепних нервів. Характерне випадіння окремих рефлексів згинання стоп на ногах тощо. Міоклонії й епілептичні напади реєструються нечасто (Brown P., Gajdusek D.C., 1991).

**Патолого-анатомічні зміни.** У разі ХГШШ переважно виявляються дегенерація провідникових систем спинного мозку й мозкового стовбура, зменшується кількість нейронів в ядрах мозочка, мозкового стовбура, базальних ядрах, гіпокампі, корі великих півкуль. Найбільш виражені зміни в мозочку. Зміни також характеризуються наявністю значної кількості концентричних амілоїдних пластин (бляшок), що їх виявляють здебільшого в молекулярному шарі кори мозочка, хоча вони часто характеризуються локальним поліцентричним відкладанням амілоїдних бляшок не лише в корі мозочка, а також у базальних гангліях. Виявляють характерні амілоїдні бляшки, дегенерацію білих провідникових систем, переважно спиноцеребелярних трактів, й втрату нейронів в усьому мозку. В цьому разі з різною частотою й ступнем вираженості можуть приєднуватись спонгіформні зміни й астрогліоз, втрата нейронів і відкладення таубіллка (Gambetti P. et al., 2003; Ghetti B. et al., 2003; Nonno R. et al., 2019; Bizzi A. et al., 2020; Minikel E.V. et al., 2016).

**Діагностика.** Клінічно за цього захворювання виникають симптоми, які включають рухові розлади, пірамідні ознаки, когнітивні й поведінкові порушення, психіатричні симптоми, на основі яких можна запідозрити цю хворобу.

Білкові біомаркери спинномозкової рідини, включаючи 14-3-3 і тау (*tau*) часто недостатньо чутливі для виявлення інфекційного

пріону (Masters C.L. et al., 1981). Проводять резонансну томографію (MPT) та електроміографію (ЕМГ)(Zhao M.M. et al., 2019), ЕЕГ. Однак ці методи слабо специфічні й малочутливі (Webb T.E. et al., 2008).

Під час флуоресцентної мікроскопії з тіофлавіном *S* було виявлено значну кількість дрібних куруподібних і багатоцентрових бляшок із щільною структурою. Бляшки також були виявлені в неокортексі, базальних гангліях, мозочку й гіпокампі. Ці бляшки були доволі сильно імунореактивні до *PrP* (Bugiani O. et al., 2000).

Тестування гена *PRNP* також можна використовувати для підтвердження цієї генетичної пріонної хвороби (Jiang A.A. et al., 2019).

Проте в останні роки, більшість випадків *GSS* діагностуються за допомогою генетичного секвенування (*SCA*) (Zhao M.M. et al., 2019).

Мікроскопічні й імуногістохімічні дослідження дозволяють виявити в неокортексі незначну втрату нейронів або гліоз, виявляють також дифузні пікнотичні пірамідальні нейрони, які найбільш часто зустрічаються в лобній, тім'яній і моторній корі. Спостерігалась вогнищева мікровакуолізація нейропіля, яка була найбільш вираженою в тім'яній зоні (Masters C.L. et al., 1981).

Вестерн-блот є доволі чутливим і доступним тестом (Ghetti B. et al., 2018).

Використовують високочутливий молекулярний метод досліджень – індуковану вібрацією конверсію (*real time quaking-induced conversion; RT-QuIC*)(Jiang A.A. et al., 2019). *RT-QuIC* показав позитивний результат у 90% пацієнтів під час тестування на мутацію *Pro102Leu* у населення (Kovács G.G. et al., 2005; Sano K. et al., 2013).

**Диференційна діагностика.** На відміну від хвороби Крейтцфельда-Якоба за *GSS* здебільшого виявляються амілоїдні бляшки (серед яких домінують мультицентричні, які складаються із радіально орієнтованої фібрилярної мережі), але відносно локально формуються спонгіформні зміни й гліоз. Крім того, диференціювати *GSS* потрібно від олівопонтocereбелярної атаксії, гепатоцеребральної дегенерації, розсіяного склерозу, родинної форми хвороби Альцгеймера, метакроматичної лейкоцистрофії, хвороби Рефсума (Stoyda N.I., Zavalishin I.A., 2012)

**Лікування** малоефективне. Проте для покращення мозкового кровообігу (внутрішньовенно застосовують вінпоцетин 20 мг/добу й перорально бутилфталід 0,6 г/добу. Для покращення метаболізму у мозку застосовують оксірацетам (4 г/добу). Застосовують симптоматичне лікування (Cao L. et al., 2021).



## СКРЕПІ

Скрепі (лат. – *Chesmus ovium*; англ. – *Scrapie*; син. “почесуха” (рос.), “вертячка”) – нейродегенеративне пріонне захворювання овець, кіз і муфлонів, яка характеризується тривалим – до 2–4 років інкубаційним періодом, симптомами ураження центральної нервової системи, явищами атаксії, тремору, свербєжу і виснаження. Хвороба завжди закінчується летально.

У овець скрепі – це смертельне неврологічне захворювання, яке спричинене неправильно згорнутим білком пріоном ( $PrP^{Sc}$ ). Нормальний клітинний пріонний білок ( $PrP^C$ ) кодується ендегенним геном *PRNP*, який присутній у високих концентраціях у ЦНС. Попри те, що для  $PrP^C$  було описано широкий спектр функцій, весь спектр останніх ще повністю не з’ясований. Накопичення  $PrP^{Sc}$  призводить до нейродегенерації. Ген *PRNP* має декілька природних поліморфізмів, і існує сильна кореляція між сприйнятливістю до скрепі та генотипом цього гену. Хвороба може передаватися між тваринами як безпосередньо, так і через навколишнє середовище, а інфіковані приміщення важко знезаразити. Наявність класичної форми скрепі може призвести до торгових санкцій, і багато країн запроваджують програми контролю або знищення. Наріжним каменем програм з ліквідації скрепі є відбір стійких до скрепі генотипів овець для ліквідації класичної форми скрепі. Саме тому розведення цих тварин спрямоване на генетичну стійкість є важливим інструментом у багатьох із цих програм; що стосується кіз, то тут ще недостатньо знань стосовно їх генів стійкості (Cassmann E.D., Greenlee J.J., 2020).

Як результат посиленого нагляду атипів (*Nor98*) пріони скрепі були виявлені як в овець, так і у кіз. Атипова форма скрепі часто зустрічається в овець, які генетично стійкі до класичної форми скрепі. Підтвердженням цієї тези є той факт, що повідомлення про цю форму захворювання реєструють в країнах, де не реєструють класичної форми скрепі. Нетипові *Nor98* пріони передаються між тваринами в природі не легко, і нечасто виявляються більше ніж в одній тварини в стаді. Цілком можливо, що вони виникають спонтанно в овець, подібно до деяких генетичних пріонних захворювань у людей (Matthews D., Cooke B.C., 2003; Eghiaian F., et al., 2004; Touzeau S. et al., 2006; Arsas J.N. et al., 2007; Benestad S.L. et al., 2008; Morawski A.R. et al., 2013; Acín C. et al., 2013; Bulgin M.S., 2013; EFSA, 2005, 2014; Acín C., Pitarch J.L., 2016).

**Історична довідка.** Відкриття пріонів тісно пов'язане з історією відкриття й становлення вчення про повільні інфекції, коли в 1954 р. ісландський вірусолог В. Sigurdsson виклав результати своїх багаторічних досліджень масового ураження смертельним захворюванням овець, завезених в 1933 р. із Німеччини на острів Ісландія для розвитку каракулівництва. Серед вивчених В. Sigurdsson захворювань овець була детально досліджена давно й добре відома в багатьох країнах хвороба, відома під назвою скрепі (“почесуха”), й остання повністю відповідала характеристикам повільних інфекцій (Sigurdsson B., 1954; Sigurdarson S., 1991; Shnajder N.A., 2014).

Вважають, що скрепі вперше виникла десь в Європі наприкінці середньовіччя. Перші повідомлення про скрепі овець належать до 1732 р. (Велика Британія) і до 1759 р. (Німеччина). Цю хворобу реєстрували у вигляді спорадичних випадків в стадах овець Англії, Ірландії і Шотландії. Поява цього захворювання в Англії, ймовірно, пов'язана зі ввезенням овець породи іспанський меринос, які хоча й були доволі сприйнятливими до скрепі, але мали шерсть виключної якості. У Німеччині хворобу офіційно зареєстровано у 1827 р. Інфекційну етіологію скрепі було підтверджено експериментально в 1936 р. в овець (Cuille J., Chelle P.L., 1936), а у 1939 – у кіз. Згодом тваринності патогенного пріона (переважно вівці породи суффолк) були імпортовані в різні країни світу, де починаючи з 1946 р. стала реєструватись ця хвороба (Brown P., Bradley R., 1998; Brown P. et al., 2001; Detwiler L.A., Baylis M., 2003). Через 2 століття після першого описання скрепі в овець почались наукові дослідження походження й передачі хвороби, результати яких були опубліковані в ветеринарній літературі наприкінці XIX століття, коли С. Vesnoit і С. Morel з колегами з клініки ветеринарної медицини в Тулузі (Франція) описали наявність губчастих змін у спинному мозку й прилеглих нервах тварин, які загинули від скрепі (Brown P., Bradley R., 1998; Shnajder N.A., 2014). Автори зробили висновок, що такі зміни були проявом токсичної периферійної нейропатії. С. Vesnoit в 1899 р. також провів експерименти із передачі й зараження скрепі в овець, але його досліди не мали успіху із за короткого терміну спостереження за цими тваринами (9 місяців). Згодом Жан Гейл довів необхідність більш тривалого періоду спостереження за експериментально зараженими тваринами після інфікування. Публікації результатів його експериментів у співавторстві з Р.-L. Chelle в 1936–1938 рр., продемонстрували, що скрепі є інфекційною хворобою (Brown P., Bradley R., 1998). Інфекційність хвороби також було підтверджено W. Gordon

в 1946 р. під час намагання вакцинувати овець екстрактами тканин головного мозку ягнят, які загинули від скрепі, що й стало причиною незначної епізоотії цієї хвороби в Шотландії (Pokrovskiy V., Kiselev O., 1998; Pokrovskiy V.I., Briko N.I., 2010). Активні дослідження цього захворювання також проводились у США, де перші випадки захворювання були зареєстровані в графстві Сафолк, куди вівці були завезені з Великобританії через Канаду в 1947 р. Згодом було виявлено це захворювання більш як у 1000 стад овець на території США (Brown P., Bradley R., 1998; Shnajder N.A., 2014). Піонерська робота з експериментального вивчення скрепі була виконана D. Wilson в Единбурзі в 40-х роках ХХ століття, який вивчав фільтрацію патогена й показав його надзвичайну стійкість до різних фізичних і хімічних агентів, у тому числі до впливу тепла (100°C за 30 хв), фенолу, хлороформу, формальдегіду й ультрафіолетового опромінення. Він також документально підтвердив збереження інфекційності висушеної тканини головного мозку вівці загиблої від скрепі, після 2-річного періоду зберігання (Brown P., Bradley R., 1998). В середині ХХ століття в Англії W. Gordon задумав і вперше виконав велике дослідження сприйнятливості до скрепі з використанням більш як 1000 голів овець (так званий “експеримент двадцяти чотирьох порід”). Дослідження дозволило в експериментальних умовах відібрати породи які мали найбільшу сприйнятливість до захворювання, й навпаки – найменшу (Gordon W.S., 1946). Він також зібрав доволі активні групи вчених (G. Hunter, G. Millson, R. Kimberlin, C. Walker, I. Pattison та інші), які в 1960–1980 рр. проводили експерименти з вивчення генетичної сприйнятливості до скрепі, патогенезу захворювання й характеристики збудника (Brown P., Bradley R., 1998; Shnajder N.A., 2014). P. Braun (2013) зазначав, що B. Sigurdsson зумів виявити серед захворювань, які ним вивчались певну подібність й підсумував їх в 4 провідних ознаках, які відрізняли повільні інфекції: – незвично тривалий (місяці й роки) інкубаційний період; – повільно поступальний характер перебігу; – незвичність ураження органів і тканин; – незворотність смертельних наслідків. В 1961 р. R. Chandler (1961) показав, що для вивчення скрепі з успіхом можна використовувати лабораторних мишей. Саме ця складова відкрила нові можливості для експериментальних досліджень (адже тривала біопроба на вівцях не була дешевою, й обмежувалась лише цим видом тварин). Згодом на мишах почали проводити й генно-інженерні дослідження для вивчення пріонних захворювань (Shnajder N.A., 2014).

З 1920 по 1950 рік захворювання овець і кіз на скрепі набуло значного поширення в Англії, що завдало значних збитків фермерським господарствам і державі. У цій країні скрепі було встановлено в різних регіонах і в багатьох порід. У 1972 р. захворювання було відтворено шляхом орального зараження овець плацентою хворих на скрепі тварин. З 1962 по 2000 р. у Великобританії було близько 15% господарств, неблагополучних щодо скрепі, а захворюваність сягала 20–30%. Активна міжнародна торгівля Англії вівцями, зокрема породою суффолк, призвела до поширення скрепі в інших країнах світу. У США 87% випадків хворіли вівці породи суффолк, яка є дуже чутливою до скрепі. Скрепі реєстрували у Франції, Ірландії, Ісландії, Нідерландах, Північній Америці. В останні роки хвороба діагностувалася у Німеччині, Норвегії, Чехії, Швейцарії. Загалом, після імпорту овець із неблагополучних країн скрепі спостерігалася майже на всіх континентах. Наприкінці ХХ ст. 6% господарств Нідерландів були неблагополучними щодо скрепі. В одному із господарств в Ісландії середньорічна смертність від скрепі становила 50%. На початку ХХІ ст. у країнах ЄС захворюваність на скрепі складала 0,1–1,4% (Greenwood P., 2002; Verbytskyi P.I., 2005; Arsac J.N. et al., 2007; Animal Health Australia, 2011, 2016; Bulgin M.S., 2013). Наприкінці 90-х років минулого століття в Норвегії було виявлено декілька підозрілих випадків скрепі з незвичайними клінічними ознаками й патолого-анатомічними змінами (згодом такі атипові пріони збудника отримали назву *Nor98*) (Benestad S.L. et al., 2003). Перший випадок такого захворювання було виявлено в Східній Норвегії, яка до того часу вважалася регіоном, вільним від скрепі. В ураженій атиповим скрепі вівці був генотип *PrP*, за якого вівці є доволі резистентними до класичної форми скрепі (Tranulis M.A. et al., 1999). Переважаючим клінічним симптомом була поступальна атаксія. Крім того, за класичної форми скрепі переважають патологічні зміни у стовбурі мозку, а під час незвичайних випадків *Nor98* патологічні зміни й значне накопичення *PrP<sup>Sc</sup>* було виявлене в корі головного мозку і мозочка. Глікопрофіль протеїнази *PrP<sup>Sc</sup>* в усіх атипових випадках також відрізнявся від класичної форми скрепі. Згодом з'ясувалось, що такий профіль є притаманним атиповому/*Nor98* скрепі (Buschmann A. et al., 2004; Onnasch H. et al., 2004; Benestad S.L. et al., 2008; Orge L. et al., 2010). Нині атипові випадки скрепі виявлені на Фолклендських островах (Epstein V. et al., 2005), США (Loiacono C.M. et al., 2009), Новій Зеландії (MAF, 2009), Австралії (Carroll A., 2010), Канаді (Mitchell G.B. et al., 2010) й більш ніж у 20 європейських країнах

(Fediaevsky A. et al., 2008). Дослідження фіксованих формаліном архівних матеріалів мозку на атипову/*Nor98* скрепі в Великобританії (принаймні до 1987 р.) продемонструвало, що ця форма захворювання існувала у популяції дрібних жуйних протягом багатьох років й просто не була виявлена (Webb P.R. et al., 2009).

**Характеристика збудника.** Збудник хвороби – це інфекційний пріон ( $PrP^{Sc}$ ). Скрепі є членом групи трансмісивних губчастих енцефалопатій (*TCE*), власне групи нейродегенеративних захворювань, спричинених пріонами, інфекційними білками, які, реплікуються шляхом перетворення нормального клітинного білка в копії зміненого пріона. Клітинний білок, який називають  $PrP^C$ , знаходиться на поверхні нейронів. Патогенні ізоформи  $PrP^{Sc}$ , виявлені у тварин зі скрепі, їх також позначають  $PrP^{res}$  (“*res*” означає стійкість пріонів до протеїнази *K* порівняно з нормальним  $PrP^C$ ). Інші назви, що використовуються для цього білка, зазначена –  $PrP^{Sc}$  (“*Sc*” для скрепі),  $PrP^{TSE}$  або  $PrP^d$  (“*d*” для асоційованого з хворобою) (EFSA, 2005, 2014; Dassanayake R.P. et al., 2011, 2015; Bulgin M.S., 2013; Chianini F. et al., 2015).

Класична форма скрепі – це інфекційне захворювання, яке може бути спричинене кількома штамми пріону класичної форми скрепі. Атипові (або *Nor98*) пріони скрепі були вперше виявлені в Норвегії в 1998 році, хоча згодом вони також були виявлені в старіших архівних зразках з Європи. Спорадичний характер атипових/*Nor98* випадків та їх відносно однорідний розподіл серед популяцій дрібних жуйних тварин, призвели до припущення, що ці пріони можуть виникати спонтанно, подібно до деяких захворювань в інших видів (наприклад, спонтанної хвороби Крейцфельда-Якоба у людей). Однак цей агент може бути важко виявити, і деякі дослідники вважають, що необхідні додаткові дослідження, перш ніж ця гіпотеза буде прийнята. Раніше вважали, що атипова форма скрепі спричинений не одним агентом, а відмінними пріонами у різних тварин. Останні експерименти показують, що більшість цих інфекцій спричинені одним і тим же пріоном. В спеціальній літературі є повідомлення, що в однієї експериментально інфікованої тварини атиповий *Nor98* змінився на фенотип, який не можна диференціювати від *CH1641*, незвичайного класичного штаму скрепі, який має певну схожість зі штамми губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (*BSE*) в імуноблотингу, тоді як в інших тварин розвинувся атиповий *Nor98 scrapie* (Buschmann A. et al., 2004; EFSA, 2005, 2014; Everest S.J. et al., 2006; Arsac J.N. et al., 2007; Benestad S.L. et al., 2008; Fediaevsky A. et al., 2008, 2010; Bulgin M.S., 2013).

Класична форма скрепі уражує домашніх овець і кіз, муфлонів (*Ovis musimon*) і, можливо, інших тварин, генетично близьких до овець і кіз. Тест на конверсію пріонів *in vitro* показав, що великорогі вівці (*Ovis canadensis*) можуть бути сприйнятливі; однак це все ще має бути підтверджено прямими доказами інфекції у цих тварин. Велика рогата худоба і свині не заражаються перорально, хоча велика рогата худоба була заражена внутрішньомозковим методом, який дозволяє пріонам обходити звичайні видові бар'єри.

Білячі мавпи або саймірі (*Saimiri sciureus*) були заражені аліментарно шляхом згодовування їм тканин, які містили пріони скрепі, адаптовані до організму хом'яків; однак шимпанзе (*Pan troglodytes*), мавпи-капуцини (підродина *Cebinae*), макаки *synomolgus* (*Macaca fascicularis*) та шерстисті мавпи (*Lagothrix sp.*) виявились не сприйнятливими до перорального зараження. Експериментально шляхом внутрішньомозкового зараження було інфіковано норок (*Mustela vison*), щурів, мишей, хом'яків, кролів, різні види полівок, а також кілька видів приматів – шимпанзе, капуцинів, шерстистих мавп та мармозеток (*Callithrix jacchus*). У деяких із цих досліджень (наприклад, у дослідженнях на кролях) використовувалися пріони скрепі, адаптовані до гризунів, а не пріони від овець чи кіз. У тхорів не проявлялися клінічні ознаки після зараження, а кішки виявились стійкими до внутрішньомозкової інокуляції (Barlow R.M., Rennie J.C., 1976; Gibbs C.J. et al., 1980; Baker H.F. et al., 1993; EFSA, 2005, 2014; González L. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013; Halliez S. et al., 2014; Comoy E.E. et al., 2015). В одному з досліджень повідомлялося, що риба золотистий спар (*Sparus aurata*) виявилася сприйнятною до перорального зараження (Salta E. et al., 2009).

Спроби інфікувати лабораторних мишей (не трансгенних) та рудих полівок шляхом внутрішньомозкового зараження їх атипovими пріонами *Nor98* скрепі овець і кіз не були успішними (Arsac J.N. et al., 2007; Bulgin M.S., 2013).

Повне знезараження забруднених пріонами тканин, поверхонь і середовища є складним. Збудник дуже стійкий до більшості дезінфектантів, включаючи формалін і спирт. Пріони також стійкі до тепла, ультрафіолетового випромінювання, мікрохвильового та іонізуючого випромінювання, особливо якщо вони захищені органічними матеріалами або консервовані альдегідовмісними фіксаторами, або коли титр пріонів високий. Пріони можуть міцно зв'язуватися з деякими поверхнями, включаючи нержавіючу сталь і пластик, без втрати інфекційності. Пріони, зв'язані з металом, виявляються дуже стійкими до дезактивації (Georgsson G. et al., 2006; EFSA, 2005, 2014).

Різні штами скрепі відрізняються інкубаційним періодом у тварин, клінічними ознаками, ступенем вакуолізації мозку, молекулярним профілем за вестерн-блотингом, неоднорідною чутливістю у різних генотипів та відмінностями під час імуногістохімічного дослідження (Buschmann A. et al., 2004; González L. et al., 2002, 2010; Sisó S. et al., 2010; Jacobs J.G. et al., 2011; Moore S.J. et al., 2016).

Відносно небагато методів дезактивації пріонів підтвердили свою ефективність для рутинного використання. Деякі лабораторії попередньо обробляють тканини мурашиною кислотою, щоб зменшити інфекційність перед розрізанням тканинних блоків. Для обладнання та поверхонь традиційно рекомендують застосування 1–2 *N* розчину гідроксиду натрію або розчину гіпохлориту натрію, що містить щонайменше 2% (20 000 частин на мільйон) вільного хлору. Експозиція для обробки обладнання більш ніж 1 година за 20°C (68°F) протягом ночі забезпечує дезінфекцію обладнання. Перед дезінфекцією проводять очищення з видаленням органічних матеріалів, які можуть захищати пріони. В спеціальній літературі описані новітні методи знезараження, які виявились ефективними проти інших пріонів. Вони включають застосування фенольного дезінфектанта, різні лужні та ферментативні мийні засоби (хоча ефективність конкретних засобів у цих класах різна), газова плазма перекису водню, радіочастотна газова плазма і додецилсульфат натрію з оцтовою кислотою. Ці агенти можуть бути корисними для предметів, які не витримують більш жорстких процедур дезактивації (EFSA, 2005, 2014; Rogez-Kreuz C. et al., 2009; Bulgin M.S., 2013).

Фізичну інактивацію пріонів можна здійснити шляхом автоклавування (за неповного завантаження автоклава) за 134 °C (273 °F) протягом 18 хв за тиску 30 фунтів / дм<sup>2</sup>. Стійкість до нагрівання може відрізнитися залежно від конкретного пріону, ступеня забруднення та типу зразка. Тканинні плівки, що містять пріони, тяжче знезаражувати парою після їх висихання, і рекомендації щодо хірургічних інструментів вказують, щоб після використання вони залишалися вологими, доки не буде проведено знезараження. Засіб для очищення, який використовується перед автоклавуванням, також слід вибирати з обережністю, оскільки певні засоби (наприклад, деякі ферменти) можуть підвищити стійкість пріонів до стерилізації парою. Сухе тепло менш ефективне, ніж вологе; деякі пріони можуть пережити сухий жар за температури до 360°C (680°F) протягом години, а одна група дослідників навіть повідомила, що інфекційність пріонів збереглась навіть після впливу 600°C (1112°F). Комбінація

хімічної та фізичної дезактивації може бути ефективнішою, ніж будь-яка процедура окремо, і в спеціальній літературі були опубліковані ефективні комбінації хімічних агентів (наприклад, *NaOH*) та автоклавування. Слід зазначити, що навіть найжорсткіша комбінація хімічної та фізичної дезінфекції не гарантує знищення всіх пріонів в усіх типах зразків (Brown P. et al., 2000; EFSA, 2005, 2014; Rutala W.A. et al., 2010; Bulgin M.S., 2013).

Дезактивація забруднених об'єктів, особливо таких, як загоны для тварин, може бути дуже тяжкою. В одному дослідженні генетично сприйнятливі вівці заразилися пріонами скрепі після того, як їх помістили в загоны, які були промиті під тиском і знезаражені високою концентрацією гіпохлориту натрію (розчин активного хлору 20 000 частин на мільйон) на одну годину, з подальшим фарбуванням і повною повторною гальванізацією або заміною металоконструкцій. Звіти з програми викорінення скрепі в Ісландії вказують на те, що на окремих фермах спалахи цього захворювання повторювалися, попри дезактивацію (500 часток активного хлору на мільйон), періодично проводилась дезінфекція та протягом 2 років не завозились тварини. Доведено, що знезараження ґрунту, забрудненого пріонами, нині є недоцільним, хоча деякі дослідники описують доволі ефективну вологу ферментативну обробку на основі субтилізіну (ефективна за температури навколишнього середовища), що є перспективним в лабораторії (Brown P., Gajdusek D.C., 1991; EFSA, 2005, 2014; Smith C.B. et al., 2011; McDonnell G. et al., 2013; Smith J.D. et al., 2013; Alarcon P. et al., 2021).

Досліди показали, що компостування може зменшити або усунути пріони скрепі та інші пріони в тканинах трупа. Інші дослідники припустили, що мікроорганізми ґрунту можуть руйнувати пріони в похоронених тушах (Maddison B.C. et al., 2010; Bulgin M.S., 2013; Xu S. et al., 2014; Hawkins S.A. et al., 2015).

**Епізоотологічні відомості.** Повідомлялося що класичний варіант скрепі реєструється на всіх основних континентах і на багатьох островах де розвинуто вівчарство. Останні дослідження показують, що в деяких країнах ця хвороба або відсутня, або присутня мінімально. Однак незначну кількість інфікованих тварин може бути важко виявити, і Всесвітня організація охорони здоров'я тварин (*OIE*) вимагає, щоб країна проводила активний нагляд, з високою ймовірністю виявлення низьких рівнів скрепі, протягом принаймні 7 років, перш ніж вона зможе вважатися вільною від скрепі. Австралія та Нова Зеландія, де востаннє повідомлялося про скрепі у 1950-х роках,



визнані як вільні від скрепі. У деяких країнах активний нагляд за скрепі практично не проводиться або взагалі не проводиться, і наявність чи відсутність цього захворювання є невизначеним.

За даними (WOHA) у 2021 році скрепі було зареєстровано в Німеччині, Ісландії, Ірландії, Італії, Румунії, Іспанії.

Збудник уражує овець, кіз (для цих двох видів тварин можлива передача в обох напрямках) і муфлонів (Hanson R.P. et al., 1971; Le Dur A. et al., 2005; Kariv-Inbal Z. et al., 2006; Dexter G. et al., 2009; Low J.C. et al., 2009; Maestrале C. et al., 2015).

Атиповий варіант *Nor98* скрепі був виявлений у більшості європейських країн, Північній Америці, Новій Зеландії, Австралії та деяких інших країнах. Деякі дослідники вважають, що якщо це спонтанне генетичне захворювання, то воно виникне в усіх районах, де зустрічаються дрібні жуйні тварини. Наявність атипового *Nor98* скрепі не впливає на статус країни в міжнародній торгівлі (Gavier-Widén D. et al., 2004; Buschmann A. et al., 2004; Moum T. et al., 2005; EFSA, 2005, 2014; Arsac J.N. et al., 2007; Benestad S.L. et al., 2008; Häusermann C. et al., 2010; Kittelberger R. et al., 2010; Animal Health Australia, 2011, 2016; Bulgin M.S., 2013).

Інфіковані тварини є носіями пріона скрепі все життя і можуть передавати агента, навіть якщо у них зовсім відсутні симптоми. Вважається, що інфекція виникає здебільшого під час заковтування збудника (аліментарний шлях). Овець вдається заразити експериментально через кон'юнктиву або слизову носової порожнини, парентеральним шляхом (ін'єкції в різні ділянки тіла). Вважають, що збудник може проникати в організм сприйнятливої тварини через ушкоджену шкіру. Вважають, що більшість овець заражаються від матері під час окоту або незабаром після народження. Молодняк більш сприйнятливий до зараження, Старі тварини можуть заразитися, але вони більш стійкі. У деяких овець плацента може містити високі рівні пріонів скрепі, а облизування або проковтування плодових оболонок і рідин вважається важливим шляхом зараження у цього виду. У кіз також пріони скрепі є в плаценті, хоча в значно меншій кількості. Відомо, що молоко як овець, так і кіз містить збудника. Може відбуватись також пренатальна передача збудника (González L. et al., 2009; Tabouret G. et al., 2010; Spiropoulos J. et al., 2014).

*PrP<sup>Sc</sup>* за класичної форми скрепі у молодих овець передається переважно аліментарним шляхом, про що свідчить виявлення збудника в *GALT* ягнят (Hadlow W.J. et al., 1982; Heggebo R. et al., 2000; Shmakov A.N., Ghosh, S., 2001; Gough K.C., Maddison B.C., 2010).

Вертикальна передача від вівці до ягняти відбувається внутрішньо-утробно (Foster J.D. et al., 2013; Spiropoulos J. et al., 2014) і в перинальний період (Pattison I.H. et al., 1972; Tuo W. et al., 2001). Пероральна передача *PrP<sup>Sc</sup>* в післяродовий період полегшується під час контакту ягнят з плацентою й виділеннями з піхви інфікованих овець або предметами довілля, забрудненими *PrP<sup>Sc</sup>* (Pattison I.H. et al., 1972; Tuo W. et al., 2001). Підсисні ягнята й козенята отримують *PrP<sup>Sc</sup>* під час споживання молока й молозива (Konold T. et al., 2008, 2013, 2016). Горизонтальна передача збудника скрепі відбувається після потрапляння збудника в організм сприйнятливої тварини із навколишнього середовища (Konold T. et al., 2015). Інфіковані вівці виділяють *PrP<sup>Sc</sup>* в довілля через слину (Vascellari M et al., 2007; Gough K.C. et al., 2012; Tamgüney G. et al., 2012), сечу (Andrievskaia O. et al., 2008; Rubenstein R. et al., 2011), фекалії (Terry L.A. et al., 2011), та сперму (Rubenstein R. et al., 2012). Виділення *PrP<sup>Sc</sup>* інфікованими тваринами в субклінічну стадію захворювання є особливо небезпечним (Ersdal C. et al., 2003).

Також можлива ятрогенна передача. Періодично пріони виявлялися в крові окремих тварин, за рік до появи клінічних ознак. Передача через кров стає більш ефективною з розвитком інфекційного процесу в організмі тварини й наближення до клінічної стадії. В клінічній стадії значні концентрації збудника виявляють в центральній нервовій і лімфатичній системах уражених овець (EFSA, 2005, 2014; Foster J. et al., 2006, 2013; Georgsson G. et al., 2008; Maddison B.C. et al., 2009; Ligios C. et al., 2011; Vulgin M.S., 2013).

Більшість досліджень показують, що ризик передачі через сперму незначний або взагалі відсутній; однак дослідження з лабораторним штамом пріона скрепі показало його наявність у спермі овець та наступну його інфекційність. Епідеміологічні дані свідчать про те, що вівці можуть заразитися в епізоотичних вогнищах де є хворі вівці, через різні фактори передачі, включно з пасовищами. В одному з досліджень було виділено пріони скрепі з різних складових навколишнього середовища, таких як кормові корита, напувалки й посуд для напування, навіть через 20 днів після видалення інфікованих овець. Пріони були виявлені як у приміщеннях, так і прифермських територіях, здебільшого їх виявляли на металевих предметах (наприклад, жолобах для води, металевих воротах тощо) у приміщенні. В іншому дослідженні пріони скрепі були виявлені на різних поверхнях, у зразках пилу навколишнього середовища та на пасовищах на відстані до 30 м від приміщень де за рік до цього утримувались

вівці. В Ісландії спалахи скрепі повторилися в деяких приміщеннях, які заповнювали тваринами через 2–3 роки після дезактивації, і, навіть, в одному з приміщень, де дрібних жуйних тварин не утримували 16 років (Gough K.C. et al., 2015).

Пріони можуть зв'язуватися з ґрунтом і зберігатися протягом різних періодів залежно від типу ґрунту (1,5–3 і більше років). Останні залишаються заразними для тварин навіть коли вони зв'язані з часточками ґрунту. Повідомлялося, що періодичне зволоження та висихання зменшують, хоча й зовсім не усувають, інфекційність ґрунту. Пріони також можуть залишатися інфекційними після проходження через травний тракт стерв'ятників або хижаків; це було продемонстровано експериментально на койотах і воронах (EFSA, 2005, 2014; VerCauteren K.C. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013).

Епізоотологічні відомості свідчать про те, що атипова форма скрепі або не є заразною хворобою, або передача збудника відбувається неефективно і з доволі низькою швидкістю. Кількість уражених тварин в стадах овець є незначною. Однак лабораторні експерименти показали, що атипові пріони скрепі можуть передаватися перорально новонародженим ягнятам. Високочутливі тести виявили наявність цих пріонів в тканинах ЦНС і клубової кишки у деяких із цих ягнят до 12 місяців після зараження, а в окремих тварин згодом розвинулись неврологічні симптоми. Загалом атипові пріони скрепі переважно виявляються в ЦНС. Високочутливі біоаналізи виявили наявність змінених пріонів в лімфоїдних тканинах, м'язах і периферійній нервовій системі експериментально інфікованих овець, хоча пріони не були виявлені в цих тканинах за допомогою стандартних методів, які використовуються для виявлення збудника скрепі (Onnasch H. et al., 2004; Orge L. et al., 2004, 2010; EFSA, 2005, 2014; Moore, S.J. et al., 2008; Mitchell G.B. et al., 2010; Bulgin M.S., 2013; Okada H. et al., 2016).

Скрепі завжди закінчується летально після появи клінічних ознак. Класична форма скрепі здебільшого реєструється в овець віком від 2 до 5 років, а у тварин у віці до року ознаки хвороби виявляються нечасто. Відсоток тварин уражених скрепі в отарі чи стаді, варіює залежно від генотипу тварин, протиепізоотичних заходів та інших чинників. За відсутності заходів боротьби кількість інфікованих тварин з часом збільшується, а клінічні ознаки починають виявлятися у тварин більш молодшого віку. Щорічний рівень смертності може досягати 10–20% у деяких сильно уражених отарах з високим відсотком генетично сприйнятливих овець, але часто він є нижчим. У деяких отарах чи стадах

багато інфікованих тварин можуть бути забиті на м'ясо або вибракувані до появи клінічних ознак (McIntyre K.M. et al., 2010).

Класична форма скрепі є серйозною проблемою в деяких регіонах, в той час, як в інших регіонах відзначається незначна кількість випадків або їх відсутність. У США та ЄС запроваджені й реалізуються програми контролю/викорінення. У Європейському Союзі 17 країн повідомляли про класичну форму скрепі в овець у період з 2002 по 2012 рік, з середньою поширеністю – 0,087%. За цей період поширеність хвороби знизилася в деяких країнах, але не зазнала значних змін в інших. У США поширеність скрепі знизилася з приблизно 0,5% у 2003 році до 0,015% станом на 2013 рік. У період роботи програми епіднадзора з 2002 по 2009 рік в ЄС було виявлено близько 3300 заражених скрепі кіз (проти приблизно 15 000 голів заражених скрепі овець). Загальна поширеність інфекції склала 0,098% у восьми країнах ЄС, які повідомили про випадки козячого скрепі у 2002–2012 роках. Однак більшість цих випадків була зареєстрована в одній країні, а середня поширеність в решті семи країнах становила 0,02%. Спостереження за козами в США, спрямоване на певні популяції тварин, показало, що у 2007–2008 роках поширеність захворювання становила < 0,1% (EFSA, 2005, 2014). Скрепі у кіз зустрічається не так часто, як в овець; однак програми активного епізоотичного нагляду показали, що в деяких районах може бути значна кількість інфікованих кіз (Smith M., Sherman D., 1994; Arsac J.N. et al., 2007; Konold T. et al., 2008; Vaccari G. et al., 2006, 2009; Fragkiadaki E.G. et al., 2011; Acutis P.L. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013).

Вівці та кози з атиповим скрепі, як правило, старші за віком, ніж ці ж види тварин за класичного перебігу цього захворювання. Хоча повідомлялося про зараження тварин різного віку старших 18 місяців (нижня вікова межа для тестування в ЄС), кілька досліджень показали, що більш ніж половина всіх інфікованих тварин були старшими 5 років, а в одному з досліджень було показано, що поширеність захворювання збільшується з віком. Як правило, у кожному стаді або отарі інфікується тільки одна тварина, хоча іноді повідомляється про декілька випадків захворювання у великих групах тварин. Атиповий перебіг скрепі, ймовірно, переважно реєструється в овець частіше ніж у кіз. У 2009 році в одному з оглядів повідомлялося, що в ЄС було виявлено 908 інфікованих овець та 33 інфікованих кози уражених атиповою формою скрепі. Поширеність цього захворювання у різних країнах відносно однорідна, що відповідає збуднику, адже хвороба може виникати спонтанно. У ряді європейських

країн поширеність атипової форми скрепі коливалася від < 0,1% до 1,4% серед здорових тварин, забитих на м'ясо, і від 0,1% до 2,5% серед загиблого поголів'я. Дослідження й спостереження за забоєм худоби в ЄС показало, що середня поширеність захворювання становить 0,06%. Деякі експрес-тести, які використовуються під час нагляду за забоєм, не дозволяють легко виявити атиповий перебіг скрепі, тому в деяких країнах відсоток тварин ураженим цим збудником є дещо більшим (Le Dur A. et al., 2005; Seuberlich T. et al., 2007; Lühken G. et al., 2007; Bulgin M.S., 2013; Konold T. et al., 2016).

У овець, генетично стійких до скрепі, після зараження може або не спостерігатися жодних клінічних ознак інфекції, або клінічні ознаки виявляються після тривалішого інкубаційного періоду, значно тривалішого ніж у сприйнятливих тварин. Генотип також впливає на передачу інфекції. Генетично стійкий плід пригнічує появу пріонів у плаценті інфікованої, сприйнятливої до скрепі матки (за винятком випадків, коли стійкий плід розвивається в тому ж розі матки, що й сприйнятливий плід). Розведення таких овець із використанням стійкого барана може зменшити кількість виділених у навколишнє середовище пріонів під час ягніння. В плаценті овець зі стійкими генотипами пріони не реплікуються попри генотип плоду (Goldmann W. et al., 1994; EFSA, 2005, 2014; Bulgin M.S., 2013; Schneider D.A. et al., 2015).

Поліморфізм в гені *PrP* в кодонах 136, 154 і 171 відіграють основну роль у стійкості до класичної форми скрепі, хоча інші кодони *PrP* та інші гени також мають певний вплив (для атипової форми скрепі овець характерні кодони 141, 154 і 171). У кодоні 136 аланін (A) пов'язаний зі стійкістю, а валін (V) – зі сприйнятливістю до деяких штамів скрепі. Вівці з гістидином (H) в кодоні 154 відносно стійкі до класичної форми скрепі, з більш тривалим життям після появи клінічних ознак і більш тривалим періодом інкубації, в той час, як вівці з аргініном (R) більш сприйнятливі. Аргінін (R) у кодоні 171 пов'язаний зі стійкістю, у той час, як глутамін (Q) та гістидин (H) були пов'язані зі сприйнятливістю. Вплив деяких незвичайних амінокислот у кодонах 136, 154 або 171 невідомий. Однак лізин (K) у кодоні 171, як виявилось, подовжує інкубаційний період у овець породи Барбадоська блекбелі. Відносна частота стійких генотипів може відрізнятися в різноманітних породах овець, і це, як вважають, дуже впливає на загальну сприйнятливість породи до класичної форми скрепі.

П'ять найбільш поширених алелів *PrP* в овець – A136R154R171 (скорочено *ARR*), *ARQ*, *AHQ*, *ARH* та *VRQ*. Вівці з генотипом

*ARR/ARR* мають високу стійкість до класичної форми скрепі (випадки захворювання реєструють нечасто); гомозиготні або гетерозиготні *AHQ* і гетерозиготні тварини *ARR* зазвичай мають незначну сприйнятливість; а *VRQ/VRQ*, *ARQ/VRQ* та *ARQ/ARQ* вівці, як очікується, будуть найбільш сприйнятливими. Деякі країни використовують усі три кодони для класифікації овець як сприйнятливих чи стійких, а в програмах викорінення США беруться до уваги кодони 136 і 171.

Стойкість до скрепі у кіз ще не до кінця вивчена, проте було виявлено низку поліморфізмів, які мають вплив на стійкість. Деякі алелі, очевидно пов'язані зі стійкістю, включають серин (*S*) або аспаргінову кислоту (*D*), а не аспарагін (*N*) у кодоні 146; гістидин (*H*), а не аргінін (*R*) у кодоні 154; глутамін (*Q*), а не аргінін (*R*) у кодоні 211; та глутамін (*Q*) а не лізин (*K*) у кодоні 222. *K222*, який, ймовірно, забезпечує сильну (але не абсолютну) стійкість до класичної форми скрепі, а також був пов'язаний зі стійкістю до *BSE*, був запропонований як можлива мішень для селекції в цьому напрямі серед кіз. Деякі дослідження також припускають, що поліморфізм в кодонах 127, 142, 143 і 145 можуть впливати на сприйнятливість, хоча інші дослідження виявили незначний ефект або відсутність для деяких з цих кодонів. Вплив генотипу тварини може різнитися між популяціями кіз і штамми скрепі, а вплив комбінованих генотипів поки що не визначено (Sofianidis G. et al., 2008; White S.N. et al., 2012; Kanata E. et al., 2014; Greenlee J.J., 2019).

Атипова форма скрепі/*Nor98* часто виникає в овець, генетично стійких до класичної форми скрепі. Генотипи, які часто зустрічаються в інфікованих овець, включають *AHQ*, *ARR*, *ARH* і *ARQ*. Тварини з генотипом *VRQ*, які дуже сприйнятливі до класичної форми скрепі, ймовірно відносно стійкі до атипової форми скрепі. Гістидин (*H*) у кодоні 154 гена *PrP* був пов'язаний з підвищеною сприйнятливістю до атипової форми скрепі як в *PrP* овець, так і у кіз. Повідомляється, що вівці з генотипом *ARQ*, що мають залишок фенілаланіну (*F*) у кодоні 141 (*AF141RQ*), більш сприйнятливі до атипової форми скрепі, ніж вівці *ARQ* з лейцином (*L*) у цій позиції. Також повідомлялося, що атипова форма скрепі здебільшого зустрічається у генотипів *ARR* і *ARQ* з лейцином у позиції 141 (*AL141RQ*) (Buschmann A. et al., 2004; EFSA, 2005, 2014; Moun T. et al., 2005; Saunders G.C. et al., 2006; Arzac J.N. et al., 2007; Groschup M.H. et al., 2007; Konold T. et al., 2007; Lühken G. et al., 2007; Laegreid W.W. et al., 2008; Loiacono C.M. et al., 2009; Kittelberger R.

et al., 2010; Rodríguez-Martínez A.B. et al., 2010; Fediaevsky A. et al., 2010; Götte D.R. et al., 2011; Hautaniemi M. et al., 2012; Greenlee J.J. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013; González L. et al., 2014; Houston F. et al., 2015; Greenlee J.J. et al., 2016).

Отже, за природних умов скрепі можуть уражуватись вівці, кози, муфлони. За експериментального зараження сприйнятливі мавпи, котячі, норки, хом'яки, миші, щурі. До збудника скрепі сприйнятливі лабораторні тварини: хом'яки, миші та щури (Verbytskyi P.I., 2005; EFSA, 2005, 2014; Dassanayake R.P. et al., 2016). Джерелами збудника інфекції є хворі тварини, завезені із неблагополучних зі скрепі стад овець і кіз. Пріон передається здоровим тваринам за сумісного утримання з хворими аліментарним шляхом, контактним шляхом через слизові оболонки. У більшості випадків інфікується молодняк під час родів або відразу після них. Водночас інфекційний пріон потрапляє у навколишнє середовище, що може призвести до зараження інших ягнят і дорослих тварин. Збудник скрепі може передаватися горизонтальним шляхом від вівці до вівці. Ятрогенна передача є можливою у разі введення вакцин, для виготовлення яких використовували мозок хворих овець. Є повідомлення, що інфікування може відбуватись через кліщів, які паразитують на хворих тваринах. Вертикальний шлях передачі є провідним. Хвороба передається від вівцематок до ягнят під час родів, коли новонароджене ягня інфікується у родових шляхах або відразу після родів. У хворих вівцематок високу інфекційність встановлено у родових шляхах, амніотичній рідині, плаценті. Після родів ягнята можуть інфікуватися від вівцематок через слизові оболонки. Збудник може передаватися через ушкоджену шкіру, на пасовищах та у приміщеннях (Verbytskyi P.I., 2005; EFSA, 2005, 2014; Hamir A.N. et al., 2002, 2008; Lacroix C. et al., 2007, 2008; Alverson J. et al., 2006; Hoinville L.J. et al., 2010; Seuberlich T. et al., 2010; Konold T. et al., 2010, 2013; Gough K.C. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013).

Більшість досліджень на тваринних моделях та системах *in vitro* показують, що ризик для людей незначний або взагалі відсутній; однак кілька авторів висловлювали припущення про зоонозний потенціал скрепі на основі демонстрації захворювання після внутрішньомозкової інокуляції у деяких гуманізованих трансгенних мишей і нелюдиноподібних приматів. Одна група повідомила, що гуманізовані миші не були сприйнятливі до атипичних пріонів скрепі після внутрішньомозкового зараження (EFSA, 2005, 2014; Bannach O. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013; Wadsworth J.D. et al., 2013; Barria M.A.

et al., 2014; Cassard H. et al., 2014). Група дослідників працюючи з макаками *Сynomolgus* продемонстрували сприйнятливість до зараження з використанням природного ізоляту (Comou E.E. et al., 2015). Після цього дослідники заявили, що питання дійсно потребує додаткової оцінки ризиків (Requena J.R. et al., 2016).

В нашій державі випадків скрепі не зареєстровано. В таблиці 10 наведені дані ДНДІЛДВСЕ щодо досліджень на це захворювання.

Таблиця 10 – Кількість та результати досліджень зразків довгастого мозку від дрібної рогатої худоби на скрепі за період 1996–2021 роки.

№ п/п	Рік	Методи дослідження					Всього
		Гісто-логічний	Імуногісто-хімічний	Фермента-тивної імуноад-сорбції	<i>Prionics®-Check Western</i>	<i>Prionics®-Check PrioSTRIP</i>	
1	1996	16	-	-	-	-	16
2	1997	14	-	-	-	-	14
3	1998	4	-	-	-	-	4
4	1999	0	-	-	-	-	0
5	2000	10	-	-	-	-	10
6	2001	10	-	-	-	-	10
7	2002	1	-	-	-	-	1
8	2003	211	-	-	-	-	211
9	2004	209	-	-	-	-	209
10	2005	235	-	-	-	-	235
11	2006	288	-	-	-	-	288
12	2007	302	7	-	-	8	317
13	2008	380	10	-	2	-	392
14	2009	307	3	-	34	-	344
15	2010	310	-	-	-	-	310
16	2011	315	-	-	-	-	315
17	2012	312	-	-	-	-	312
18	2013	314	-	147	-	-	461
19	2014	334	-	-	-	-	334
20	2015	263	-	-	-	-	263
21	2016	232	-	-	-	-	232
22	2017	199	-	-	-	-	199
23	2018	72	-	37	-	-	109
24	2019	40	-	650	-	-	690
25	2020	15	-	372	-	-	387
26	2021	-	-	263	-	-	263
Всього		4393	20	1469	36	8	5926

\*- за результатами досліджень скрепі ДРХ не виявлено.



**Патогенез.** Патогенез природної інфекції скрепі має 3 окремі фази: інвазія *GALT*, лімфатична інвазія, дисемінація й нейроінвазія (van Keulen L.J. et al., 2002; Ryder S.J. et al., 2009). Після потраплення в організм сприйнятливої тварини пероральним шляхом *PrP<sup>Sc</sup>* долає кордон слизової оболонки мигдаликів, дистальну частину голодної кишки і клубову кишку. В тонкому кишківнику *PrP<sup>Sc</sup>* накопичується в пейєрових бляшках (Andréoletti O. et al., 2000), а *M*-клітини всередині пейєрових бляшок є важливими “воротами” для *PrP<sup>Sc</sup>* (Donaldson D.S. et al., 2012). Переміщенню пріонів із *M*-клітин сприяють звичайні дендритні клітини, які експресують хемокіновий рецептор *CXCR5* (Bradford B.M. et al., 2017). Присутність пріонів в пейєрових бляшках є необхідною умовою розвитку захворювання (Prinz M. et al., 2003). Початкова реплікація *PrP<sup>Sc</sup>* відбувається в *FDC* (*follicular dendritic cell*), які експресують *PrP<sup>C</sup>* (McCulloch L. et al., 2011). Результати експериментальних досліджень показують, що сприйнятливість до скрепі помітно знижується у тварин з дефіцитом *FDC*; однак є незалежні від *FDC* шляхи нейроінвазії *PrP<sup>Sc</sup>* (Mabbott N.A., Bruce M.E., 2002; Mabbott N.A. et al., 2003; Mohan J. et al., 2004).

Під час інкубаційного періоду скрепі *PrP<sup>Sc</sup>* поширюється по всій лімфоїдній системі (Andréoletti O. et al., 2000; Ryder S.J. et al., 2009). Аферентний дренаж лімфи призводить до поширення *PrP<sup>Sc</sup>* від піднебінних мигдаликів і пейєрових бляшок до медіальних заглоткових і мезентеріальних лімфатичних вузлів відповідно. Менш зрозуміло, як *PrP<sup>Sc</sup>* накопичується в інших органах, таких як селезінка, які не отримують аферентного лімфатичного дренажу, але гематогенне поширення є ймовірним. Поширення *PrP<sup>Sc</sup>* гематогенним шляхом підтверджується спостереженнями ранньої нейроінвазії в навколошлуночкові органи, які не мають гематоенцефалітного бар’єру (Sisó S. et al., 2009). Також *PrP<sup>Sc</sup>* був виявлений в крові інфікованих овець (Schmerl M.J. et al., 1999; Houston F. et al., 2008; Terry L.A. et al., 2009; Bannach O. et al., 2012).

*ENS* (*enteric nervous system*) є початковим місцем нейроінвазії *PrP<sup>Sc</sup>*. Нейрони в *ENS* можуть інфікуватися *PrP<sup>Sc</sup>* за допомогою кількох механізмів. Одним з місць реплікації є підслизові тонкі нервові волокна які знаходяться в безпосередній близькості від епітелію слизової оболонки та молочних залоз (Jeffrey M. et al., 2006). Крім того, *PrP<sup>Sc</sup>* може потрапляти в *ENS* шляхом активного транспортування клітин або дренажу з пейєрових плям (van Keulen L.J. et al., 2008) Цей механізм також підтверджується дослідженнями

переважного накопичення  $PrP^{Sc}$  в *ENS*, які прилягають до пейєрових бляшок (Andréoletti O. et al., 2000; Beekes M., McBride P.A., 2000). Після того, як  $PrP^{Sc}$  потрапляє в *ENS*, він рухається ретроградно вздовж еферентних аксонів парасимпатичних і симпатичних нейронів до довгастого мозку і грудного відділу спинного мозку, відповідно (van Keulen L.J. et al., 2002).

Встановлено, що у тварин, які заразились природним шляхом,  $PrP^{Sc}$  не стимулює гуморальну відповідь, оскільки його амінокислотна послідовність ідентична послідовності  $PrP^C$  (Grégoire S. et al., 2005; Zabel M.D., Avery A.C., 2015). Оскільки *T*-клітини переробляють антиген як лінійні епітопи, вони не можуть розрізнити пептидні послідовності  $PrP^{Sc}$  та  $PrP^C$ ; отже, антигенпрезентуючі клітини позбавлені необхідних *T*-клітинних стимулювальних сигналів, необхідних для отримання надійної гуморальної відповіді. Компоненти комплекменту взаємодіють з  $PrP^{Sc}$ , а комплекси, що атакують мембрану, локалізуються в мозковій тканині та сприяють нейродегенерації в інфікованих скрепі тварин (Mabbott N.A. et al., 2001; Blanquet-Grossard F. et al., 2005; Lv Y. et al., 2015). Крім того, ендцитоз, зумовлений комплекментом, може сприяти переміщенню  $PrP^{Sc}$  до лімфоїдних тканин через дендритні клітини, що експресують рецептор комплекменту – *CD35*. (Klein M.A. et al., 2001).

Важливо зазначити, що сучасне розуміння патогенезу класичної форми скрепі походить з експериментальних моделей, які передбачають використання овець, генетично сприйнятливих до цього захворювання. Експериментальні спостереження показують, що вівці з генотипами, які менш чутливі до скрепі, мають різну сприйнятливість до інвазії  $PrP^{Sc}$  в лімфатичну систему тварини (Ersdal C. et al., 2005; Greenlee J.J. et al., 2014), що також, ймовірно, впливає на патогенез захворювання.

Отже, пріони скрепі переважно локалізуються в ЦНС овець, але їх також виявляють в багатьох тканинах поза ЦНС, включно з периферійною нервовою системою, лімфоїдними тканинами, тканинами плаценти, слинними залозами, наднирниками та нирками; в нервах або сенсорних структурах (м'язових волокнах) скелетних м'язів; нечасто в різних інших тканинах і органах (кров, молоко, молозиво). Наявність пріонів поза ЦНС, може залежати від таких факторів, як стійкість тварини до скрепі (наприклад, її генотип), стадії захворювання та, можливо, дози пріонів. У деяких тварин накопичення пріонів за межами ЦНС може бути незначним або взагалі відсутнім.

Обмежена кількість досліджень на козах дозволила виявити пріон скрепі в ЦНС, сітківці ока, периферійній нервовій системі, наднирниках, слинних залозах, нирках, м'язах, підшлунковій залозі, печінці та різних лімфоїдних тканинах, включно з селезінкою, лімфатичними вузлами, асоційованими з кишківником лімфоїдних тканинах, мигдаликах та інших лімфоїдних тканинах. Пріони виявляють в лімфоїдних тканинах як у безсимптомно, так і клінічно хворих кіз. У слизовій оболонці носа (переважно нервова тканина) також виявлено незначну кількість пріонів (Andréoletti O. et al., 2000, 2002; EFSA, 2005, 2014; Arsac J.N. et al., 2007; Ryder S.J. et al., 2009; Garza M.C. et al., 2011, 2014; Bulgin M.S., 2013).

**Клінічні ознаки та перебіг.** Інкубаційний період у разі класичної форми скрепі у переважної більшості тварин становить 2–7 років, а пік поширеності припадає на 2–5-річний вік в овець. У тварин, віком до одного року, скрепі з проявом клінічних ознак реєструють спорадично.

Інкубаційний період для атипової форми скрепі невизначений, але хвороба зазвичай спостерігається у більш старших тварин, ніж за класичної форми скрепі. Однак у лабораторних умовах після перорального експериментального зараження новонароджених ягнят, в деяких із них у віці до 2 років проявились неврологічні ознаки.

*Перебіг класичної форми скрепі.* Ознаки класичної форми скрепі можуть бути різноманітними в овець, і на ці прояви можуть впливати такі фактори, як сприйнятливність тварини та штам пріону. Перші клінічні ознаки захворювання зазвичай поведінкові. Уражені вівці, як правило, стоять окремо від отари, часто ведуть за собою стадо, коли овець загаяють. Інші поширені ознаки включають підвищену чутливість до подразників, фіксований погляд, атаксію та/або високе підняття кінцівок під час ходи або незвичайну ходу стрибками. У тварин також може розвинутися тремтіння (особливо голови та шиї), хворі скреготять зубами, ходять з опущеною головою, горбатяться, приймають позу “спостерігача за зірками”, порушується реакція на загрозу. Деякі тварини можуть несподівано впасти, коли їх піддають будь-яким обробкам лікарі ветеринарної медицини. Зав’язування очей може спричинити порушення координації, втрату рівноваги або кружляння у тварини, однак такі тварини здатні компенсувати неврологічний дефіцит,

коли вони бачать. Погіршення зору також можливе, хоча нечасто. У багатьох овець виникає сильний свербіж, вони можуть терти, шкребти або жувати ці ділянки. У тварин, що страждають на свербіж, розчісування спинки або тиск на основу хвоста може спричинити характерну реакцію погризання або ритмічні рухи голови та тіла (тест визначення рефлекторної реакції на подряпини). На ранніх стадіях зазвичай спостерігається пригнічення, а згодом може спостерігатися значна втрата маси тіла або схуднення. Шерсть стає сухою і ламкою. Споживання води та сечовипускання також можуть змінитися, деякі вівці часто п'ють незначну кількість води. Більшість тварин гине через декілька тижнів або місяців після появи клінічних ознак.

Окремі кози мають неврологічні та поведінкові ознаки, подібні до таких в овець. Однак свербіж, реєструється не так часто, як в овець; якщо він виникає, то зазвичай менш інтенсивний і часто локалізується на хвості або холці. Кози, в яких проявляються ознаки свербіжу можуть кусати уражені ділянки тіла, але не труться об огорожі або інші предмети, і тест рефлекторної реакції на подряпини часто негативний. Повідомляється, про те що таких кіз часто тяжко доїти. Є також повідомлення про випадки, коли у тварин спостерігались лише неспецифічні ознаки (наприклад, млявість, втрата маси тіла та передчасне припинення лактації). Як і в овець, хвороба прогресує і є смертельною, а смерть зазвичай настає через декілька місяців (EFSA, 2005, 2014; Bulgin M.S., 2013; Corbière F. et al., 2013; Aguilar-Calvo P. et al., 2014; Curcio L. et al., 2016).

*Перебіг атипової форми скрепі.* Порушення координації та атаксія є найпомітнішими клінічними ознаками в овець з атиповою/*Nor98* скрепі. Свербіж виявляється мінімальним або нечастим, хоча його спостерігали у деяких тварин. В окремих випадках повідомлялося про відсутність координації тіла у просторі, занепокоєння, тремтіння, аномальні реакції на загрозу або пригнічений психічний стан. В інших випадках про такі ознаки не повідомлялося. Деякі випадки атипової форми скрепі були виявлені під час рутинного спостереження у начебто здорових стад або стад під час забою (EFSA, 2005, 2014; Arsac J.N. et al., 2007; Benestad S.L. et al., 2008; Colussi S. et al., 2008; Andréoletti O. et al., 2011; Bulgin M.S., 2013; Konold T., Phelan L., 2014). Відмінності класичної й атипової форми скрепі наведені в таблиці 11.

Таблиця 11 – **Характеристики класичного й атипової форми скрепі** (включно із хворобою, спричиненою збудником *Nor98*) (Party H.B., 1983; Benestad S.L., Bratberg B., 2006; Hörmliemann B. et al., 2006; Ulvund M.J., 2006, 2008; Benestad et al., 2008; Wemheuer W.M. et al., 2011; Fast C., Groschup M.H., 2013; Adams D.B., 2018).

Характеристика	Класична форма скрепі	Атипова форма скрепі (включно зі збудником <i>Nor98</i> )
1	2	3
Уражаються генотипи овець*.	Найбільш сприйнятливий гаплотипи <i>VRQ</i> і <i>ARQ</i> . <i>ARR</i> найбільш стійкий.	<i>Nor 98</i> може виникати у тварин із генотипом <i>ARR</i> . Висока інцидентність атипової форми скрепі реєструється у тварин з генотипом <i>AHQ</i> й низька інцидентність у тварин з генотипом <i>ARQ</i> .
Вік початку природного захворювання	В віці від 2 до 5 років, середній вік – 3,5 роки	Середній вік – 6,5 років
Тривалість захворювання	Клінічний перебіг триває від 2 тижнів до 6 місяців (до загибелі), іноді довше.	Клінічний перебіг триває від 6 тижнів до 8 місяців.
Симптоматика	Зміна поведінки, тремор, свербіж і порушення роботи опорно-рухового апарату.	Втрата маси тіла, зміна поведінки (нервовість, збудження), нечасте дрижання, свербіж не спостерігається, порушення роботи опорно-рухового апарату (атаксія, рухи по колу).
Розподіл <i>PrP<sup>Sc</sup></i> в тканинах за природної інфекції та інфекційності	Інфекційний <i>PrP<sup>Sc</sup></i> постійно присутній в периферійній лімфоїдній тканині.	<i>PrP<sup>Sc</sup></i> не виявляється за межами центральної нервової системи або в периферійній лімфоїдній тканині. Інфекційність виявлена в лімфоїдній тканині, нервах і м'язах із застосуванням біопроби на трансгенних мишах.
Характер і розподіл уражень в центральній нервовій системі	Ураження в сірій речовині включають вакуолізацію, втрату нейронів й нечасто астроцитоз. Ураження переважають в стовбурі мозку й виявляються в довгастому мозку. Розподіл уражень в інших ділянках мозку варіює в широких межах.	Вакуолізація сірої речовини переважає в молекулярному шарі кори мозочка, а також зустрічається в нижчих базальних гангліях і корі головного мозку. Ураження стовбура мозку незначні, а уражень довгастого мозку не спостерігають.
Походження й розподіл <i>PrP<sup>Sc</sup></i> в центральній нервовій системі	<i>PrP<sup>Sc</sup></i> виявляють інтра- і перинейронально, й асоційовані з гліозом і в інших місцях. Відкладання <i>PrP<sup>Sc</sup></i> постійно присутні в хвостовій частині стовбура мозку, здебільшого в довгастому мозку і дорсальних моторних ядрах блукаючого нерва ( <i>DMNV</i> ). Ступінь відкладання <i>PrP<sup>Sc</sup></i> залежить від прогресування захворювання і кінцево виявляється у всій ЦНС.	<i>PrP<sup>Sc</sup></i> відсутній в нейронах. <i>PrP<sup>Sc</sup></i> присутній здебільшого в корі мозочка (особливо в молекулярному шарі), корі головного мозку й базальних гангліях, в трійчастому нерві і в білій речовині всього мозку. Дорсальне рухове ядро блукаючого нерва ( <i>DMNV</i> ) не містить <i>PrP<sup>Sc</sup></i> .

1	2	3
Імуноблоттинг	Три смуги, які вказують на негликозильований, моногликозильований і дигликозильований <i>PrP<sup>Sc</sup></i> з молекулярними масами від 18 до 30 кДа.	Чотири смуги: три вказують на негликозильований, моногликозильований і дигликозильований <i>PrP<sup>Sc</sup></i> з молекулярними масами від 18 до 30 кДа. Четверта смуга має молекулярну масу нижче 15 кДа.
Можливість зараження трансгенних мишей	Так	Так

\*Належить до варіації амінокислотних замін у кодонах 136, 154 і 171 гена *PRNP* овець і гаплотипів, які пов'язані з генетичною стійкістю до класичної форми скрепі.

**Патолого-анатомічні зміни.** За класичної або атипової форми скрепі відсутні характерні грубі ушкодження, хоча можуть реєструватись неспецифічні зміни, такі як виснаження, а також ураження шкіри або шерсті внаслідок свербіжжю.

Гістопатологічні ураження за скрепі зазвичай (хоча і не завжди) двобічно-симетричні. Характерними ураженнями за класичної форми скрепі є незапальні губчасті зміни з вакуолізацією нейронів у ЦНС. Астроцитоз може спостерігатися більшою чи меншою мірою, а у деяких тварин можуть виникати амілоїдні бляшки. Ураження зазвичай присутні в стовбурі мозку тварин за класичної форми скрепі, хоча вони не обмежуються цією локалізацією. Навпаки, тварини за атипової/*Nor98* форми скрепі, як правило, мають мінімальні або зовсім не губчасті ураження стовбура мозку, хоча деякі тварини можуть мати ураження більш ростральних відділів ЦНС, таких як кора мозочка, кора головного мозку та базальні ганглії (Benestad S.L. et al., 2003; Benestad S.L. et al., 2008; Colussi S. et al., 2008; Andréoletti O. et al., 2011; Vulgin M.S., 2013).

**Діагностика.** Як класичну, так і атипову форму скрепі можна діагностувати після смерті шляхом виявлення пріонів у ЦНС. Пріони зазвичай можна знайти в стовбурі мозку тварин з класичною формою скрепі, і діагноз в цих тварин, як правило, підтверджується шляхом взяття проби довгастого мозку. Пріони нечасто накопичуються в цій ділянці у тварин з атиповою/*Nor98* формою скрепі, або можуть бути взагалі відсутні. В окремих тварин за атипової/*Nor98* форми скрепі мали місце значні відкладення пріонів у корі мозочка, корі головного мозку, чорній речовині, таламусі та/або базальних

ядрах; однак специфічна картина забарвлення пріонів у різних тварин різна. Відбір проб як з мозочка, так і з довгастого мозку з більшою ймовірністю дозволяє виявляти як випадки класичної, так і атипової скрепі, ніж забір мозкової речовини з інших ділянок мозку (Carmona P. et al., 2005; EFSA, 2005, 2014; Simmons M.M. et al., 2007, 2011, 2015).

Діагноз на класичну форму скрепі можна підтвердити у живих овець шляхом виявлення пріонів у біоптатах з ніктуючої мембрани (тест третьої повіки), мигдаликів піднебіння або лімфоїдної тканини, пов'язаної зі слизовою оболонкою прямої кишки. Іноді інфекційні пріони також виявляють у поверхневих лімфатичних вузлах. Біопсію третьої повіки та слизової оболонки прямої кишки можна проводити без седатії, з використанням лише місцевої анестезії та фіксації. Біопсія мигдаликів піднебіння вимагає анестезії й менш практична в польових умовах. У овець і кіз за класичної форми скрепі пріони іноді можна виявити в периферійних лімфоїдних тканинах до того, як вони з'являться в мозку. У тварин з атиповою скрепі нині за допомогою звичайних діагностичних тестів не можна виявити пріони поза межами ЦНС (Shimada K. et al., 2005; Vascellari M. et al., 2007; Monleón E. et al., 2011; Everest S.J. et al., 2011; Rubenstein R. et al., 2012).

Імуноблотинг (вестерн-блот) та імуногістохімія є найбільш специфічними методами для виявлення пріонів (González L. et al., 2008). Імуноблотинг також дозволяє відрізнити пріони атипової/*Nor98* форми скрепі від класичного. У деяких країнах доступні різні швидкі тести для підтвердження класичної форми скрепі, які ґрунтуються на імуноферментному аналізі (ІФА), автоматизованих імуноблотингах або інших методах. Швидкі тести дозволяють перевіряти значну кількість зразків і часто використовуються під час нагляду та тестуванні тварин для забою. Деякі експрес-тести також можуть виявити атипову форму скрепі; однак їх чутливість різна. В аутолізованому мозку скрепі іноді можна підтвердити шляхом електронної мікроскопії. У позитивних випадках виявляють характерні пріонні фібрили, які називаються фібрилами, що пов'язані зі скрепі; однак цей тест має низьку чутливість і більше не використовується. Гістологічне дослідження мозку може бути корисним у підтвердженні діагнозу (хоча воно, як правило, не використовується як єдиний підтверджувальний тест), але деякі тварини на ранніх стадіях інфекції мають незначні губчасті зміни або зовсім не мають останніх. Комбінація тестів може бути використана для сертифіка-

ції стад як негативних зі скрепі (Lezmi S. et al., 2004; Terry L.A. et al., 2009, 2011; Bulgin M.S., 2013).

Високочутливі аналізи, включно із методом ампліфікації неправильно згорнутого білку – *PMCA* (*protein misfolding cyclic amplification*) та метод індукованої вібрацією конверсії (*real time quaking-induced conversion; RT-QuIC*) можуть виявити інфікованих тварин раніше, ніж імуноблотинг або імуногістохімія (Saborio G.P. et al., 2001; Soto C. et al., 2002; Castilla J. et al., 2006; Atarashi R. et al., 2008; Fujihara A. et al., 2009; Bozzetta E. et al., 2011; Rubenstein R. et al., 2011; Taema M.M. et al., 2012; Thorne L. et al., 2012; Bulgin M.S., 2013; Green A., Zanusso G., 2018).

Молекулярні методи виявляють мінімальні кількості пріонів за їх здатністю перетворювати *PrP<sup>c</sup>* (звичайний клітинний білок) в інфекційний пріон *in vitro*. Нині вони переважно використовуються в наукових дослідженнях, але можуть застосовуватись для рутинної діагностики скрепі в овець і кіз (EFSA, 2005, 2014; Espenes A. et al., 2006; Di Bari M.A. et al., 2008).

Скрепі також можна підтвердити шляхом зараження мишей (біологічна проба); однак інкубаційний період у декілька місяців робить цю методику непрактичною для рутинної діагностики.

Серологія не використовується, оскільки антитіла до пріонів не виробляються (EFSA, 2005, 2014; Bulgin M.S., 2013).

**Диференційна діагностика.** Скрепі потрібно диференціювати від *BSE*, пріон якого може інфікувати овець в лабораторних умовах, його не часто виявляли у природно інфікованих кіз. За допомогою звичайних пріонних тестів це завдання виконати неможливо. *BSE* тяжче диференціювати від деяких рідкісних класичних пріонів скрепі, таких як *CH1641*. Обмежена кількість аналізів, таких як *PMCA*, використання певних спеціальних типів імуноблотів, картування епітопів, можуть допомогти диференціювати ці два агенти.

Скрепі також необхідно диференціювати від *вісни*, *лістеріозу* (нервова форма), *сказу*, *хвороби Ауескі*, отруєнь фосфорорганічними речовинами, карбонатними, ртутьорганічними сполуками, фосфідом цинку, миш'яком, повареною сіллю, а за наявності симптомів свербезу – від *трихофітії*, *стрептотрихозу*, *демадекозу*, *корости*. Диференційна діагностика скрепі й вісни не становить труднощів. Попри наявність багатьох подібних для обох хвороб клініко-епізоотологічних даних, гістологічно в разі скрепі в головному мозку виявляють альтеративні зміни, в тому числі



вакуолізацію нейронів, в той час, як для вісни характерні запальні зміни, у вигляді негнійного демієлінізуючого менінгоенцефаліта. Для нервової форми лістеріозу характерні: короткий інкубаційний період, хворіють вівці всіх вікових груп, але ягнята в більш тяжкій формі, реєструють гострий перебіг, гарячку, швидке розповсюдження хвороби в господарстві, виділяють збудників захворювання – лістерій. Гістологічними дослідженнями (іноді навіть візуально) в головному мозку виявляють зміни, характерні для гнійного запалення. В разі сказу виявляють дисемінований негнійний енцефаломієліт, а також тільця Бабеша-Негрі в цитоплазмі нервових клітин. Гострий негнійний менінгоенцефаліт характерний для хвороби Ауескі. Ця хвороба має короткий інкубаційний період, гострий перебіг зі свербежем у місцях проникнення вірусу й швидку загибель. Хворіють тварини усіх вікових груп. Для отруень тварин вищезгаданими речовинами характерні симптоми ураження центральної нервової системи: збудження, яке змінюється пригніченням, клонічні й тонічні судоми, дрижання м'язів, ослаблення рефлексів, звужування або розширення зіниць, атаксія, парез і параліч кінцівок. В цьому разі здебільшого одночасно спостерігають симптоми ураження органів травлення (утруднене ковтання, діарея, нечасто запор і тимпанія), ослаблення серцевої діяльності; за деяких отруень – часте сечовиділення. Перебіг отруень гострий або підгострий, й вони супроводжуються ураженням центральної нервової системи, хворіють тварини усіх вікових груп, захворювання обмежене в часі, часто виявляють значну кількість тварин у короткий відрізок часу. Гістологічно в головному мозку (часто і в спинному) виявляють розлади гемодинаміки (підвищене кровонаповнення судин, серозно-фібринозний набряк їх стінок, периваскулярні набряки, набряк мозкової речовини), дистрофію нейронів (за деяких отруень їх вакуолізацію), загибель нервових клітин з їх розпадом і утворенням клітин-тіней, демієлінізацію мозкової речовини, вогнищеві некрози. В разі трихофітії, стрептотрихозу, демадекозу, корости зміни обмежуються ураженням шкіри, крім того, виділяють відповідних збудників (EFSA, 2005, 2014; Bulgin M.S., 2013).

**Профілактика і заходи боротьби.** Збудник класичної форми скрепі здебільшого заноситься в благополучні господарства з тваринами-носіями, хоча є й інші шляхи, такі як контакт з зараженим кормом (наприклад, сіном). Ризик занесення скрепі можна знизити, якщо стадо не поповнювати новими тваринами або мінімізувати

закупки поголів'я іззовні. Якщо ж все-таки необхідно додати тварин для заміни, вони повинні бути зі стад, негативних за результатами тестування на це захворювання для уникнення будь-якої можливості зараження овець. Молоко й молозиво від потенційно інфікованих овець або кіз не згодують здоровим тваринам. Підбір генетично стійких овець з метою заміни маток і племінних баранів також може бути корисним для зниження ризику зараження отари. Програми сертифікації можуть допомогти виявити отари, абсолютно вільні від скрепі.

В стадах овець, де є заражені тварини, заходи контролю можуть включати видалення тварин з позитивним тестом на живих тваринах з груп підвищеного ризику зараження і/або генетичною сприйнятливостю до скрепі. Ягнята, заражаються переважно від своїх матерів, тому видалення потомства інфікованих овець допомагає в контролі цього захворювання. Крім того, в деяких країнах вибраковують членів інфікованих когорт тварин, які народились разом з ними протягом першого року життя.

Зниження впливу високих концентрацій пріонів (наприклад, у плаценті) може зменшити передачу збудника в стаді. Під час розведення овець обов'язково використовують баранів із генетичною стійкістю до цього захворювання. В стадах кіз, де генетична стійкість до скрепі вивчена не до кінця, боротися з хворобою складніше. На неблагополучних фермах, особливо в стадах кіз, іноді застосовується повна депопуляція з наступним очищенням і дезінфекцією; однак ліквідація захворювання є проблемною, адже можливі рецидиви хвороби.

Є дослідження, які показують, що можна сформувати стадо овець, вільне від скрепі, використовуючи тварин з інфікованого стада шляхом пересадки ембріонів.

Компоненти офіційних програм з контролю/викорінення скрепі часто включають нагляд (наприклад, під час забою, на фермах і в діагностичних зразках, відправлених до лабораторії), сертифікацію отар/стад, карантин або депопуляцію інфікованих стад, відстежування інфікованих тварин і підвищення генетичної стійкості овець. Декілька країн досягли оздоровлення від класичної форми скрепі використовуючи жорсткий контроль імпорту, хоча популяції овець, які утримуються в цих країнах генетично сприйнятливі.

В США, наприклад, головні принципи *NSEP (National Scrapie Eradication Program)* ґрунтуються на селективному розведенні овець зі стійкими до скрепі генотипами та нагляді. Як уже зазнача-

лось, вівці з генотипом *ARR/ARR* вважаються відносно стійкими, а вівці з генотипом *VRQ/VRQ* дуже сприйнятливі до збудника класичної форми скрепі. Остаточна діагностика скрепі у живих тварин може бути складною, і негативні результати передсмертних діагностичних тестів слід інтерпретувати з обережністю та підтверджувати за допомогою серійних тестів. *NSEP* була успішною у зниженні поширеності скрепі у овець і кіз у Сполучених Штатах (Cassmann E. D., Greenlee J.J., 2020).

Не існує методів боротьби з атиповою формою скрепі, яка реєструється спорадично й на низькому рівні, і, ймовірно, не розповсюджується легко між тваринами в польових умовах (EFSA, 2005, 2014; USDA APHIS, 2007, 2010, 2016; Vulgin M.S., 2013; OIE, 2016).

Профілактика скрепі в першу чергу передбачає охорону господарств від занесення збудника, недопущення контакту тварин неблагополучних і благополучних стад, лабораторні дослідження головного мозку у разі забою овець. Найбільш ефективними заходами профілактики є повна заборона імпорту овець і кіз із регіонів та країн, де діагностується хвороба, у вільні від скрепі території. Карантинні заходи, наприклад, щодо заборони імпорту, які були запроваджені Австралією та Новою Зеландією, зумовили ліквідацію хвороби у цих країнах. Потенційно ризиконебезпечною є торгівля продуктами овець і кіз, які можуть бути інфікованими. Забороняють використання мозку у харчових продуктах.

Пасивний та активний нагляд є основою відстежування скрепі овець і кіз. За пасивного нагляду власники тварин і лікарі ветеринарної медицини повідомляють про виникнення типових симптомів хвороби. Для підтвердження діагнозу проводять посмертні дослідження мозку підозрілих тварин за допомогою гістологічних та імуногістохімічних методів. Активний нагляд передбачає проведення пріон-тесту після забою овець і кіз. Це слід робити у разі забою як підозрілих, ризикованих, так і клінічно здорових овець і кіз незалежно від статусу (Acín C. et al., 2013; Vulgin M.S., 2013; USDA APHIS, 2007, 2010, 2016; Acín C., Pitarch J.L., 2016; OIE, 2016).

МЕБ затвердило спеціальну програму з профілактики й боротьби зі скрепі овець і кіз. З 2002 р. у ряді країн Європи почала діяти нова програма заходів з боротьби зі скрепі. Вона передбачає дослідження різних груп тварин (труп, вимушено забиті, клінічно здорові).

У разі встановлення діагнозу на скрепі овець господарство оголошують неблагополучним і в ньому запроваджують *карантинні обмеження*.

Клінічно хворих на скрепі овець і кіз (з нервово-паралітичними симптомами) і всіх тварин ураженої лінії (батьків і потомство) незалежно від фізіологічного стану ізолюють і піддають забою в господарстві. Вимушено вбитих хворих, їх батьків і потомство, трупи загиблих від скрепі тварин, абортівані плоди і посліди спалюють. Тварин, що знаходилися в контакті з хворими, мітять і спостерігають за ними протягом 24 міс. Вивезення таких тварин дозволяється лише на забій. В стадах (отарах), де реєструється висока захворюваність (20% і більше) і летальність від скрепі овець і кіз, а також у нових виявлених вогнищах, раніше благополучних із цього захворювання районах, якщо уражено багато ліній тварин приймається рішення про знищення тварин, що належать цим лініям. Здорових тварин без прояву клінічних ознак вбивають на санітарній бойні м'ясокомбінату.

Гній від хворих тварин спалюють або знезаражують витриманням в буртах протягом 2 років, в цьому разі верхні шари штабеля (бурта) обробляють 5% розчином гіпохлориту кальцію, хлораміну та іншими хлоровмісними препаратами.

Обслуговчий персонал і фахівці ветеринарної медицини в неблагополучному зі скрепі господарстві повинні дотримуватись правил безпеки. Догляд за хворими на скрепі тваринами, їх ветеринарні обробки, забій і розтин трупів, а також прибирання приміщень здійснюють в халаті, гумових чоботах, шапочці, фартуху і рукавичках. Після роботи чоботи, рукавички, фартухи та інші речі занурюють на 24 год в 5% розчин гіпохлориту кальцію або хлораміну. Поверхня робочого стола, де проводиться розтин хворих тварин, дезінфікується 5% розчином гіпохлориту кальцію і хлораміну. У разі потрапляння інфікованого матеріалу на шкіру це місце обробляють протягом 3–5 хв 3% розчином перекису водню, після чого змивають струменем води з милом і обробляють спиртом.

Карантинні обмеження з неблагополучного зі скрепі овець і кіз господарства знімають через 2 роки після останнього випадку забою або загибелі хворих на скрепі тварин і проведення завершальних заходів. Продаж або виведення овець і кіз в інші господарства для міжгосподарського обміну, племінних і виробничих цілей забороняється протягом 2 років після зняття карантинних обмежень.

## ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ КОТЯЧИХ

Губчаста енцефалопатія котячих (спонгіформна енцефалопатія котячих, *Felinen Spongiformen Enzephalopathie*; абр. назви: ГЕК, СЕК, *FSE*) – це пріонна хвороба домашніх кішок і диких котячих, які утримуються у неволі, включаючи левів, пум, гепардів, оцелотів і тигрів що виникає в разі споживання тваринницьких продуктів, отриманих від інфікованої  $PrP^{Sc}$  або хворої на губчасту енцефалопатію великої рогатої худоби та характеризується ураженням центральної нервової системи й 100 % летальністю.

**Історична довідка.** Виникнення спонгіформної енцефалопатії котячих пов'язано з поширенням губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби у Великій Британії. Коти інфікувалися  $PrP^{Sc}$  після поїдання спеціальних консервованих і сипких кормів для дрібних тварин або залишків м'ясних продуктів, які були уражені збудником губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби. Хвороба зареєстрована як серед домашніх котів, так і представників диких котячих, які утримуються у неволі (тигри, пуми, оцелоти, гепарди). Вперше хворобу зареєстровано в 1990 році. Спочатку хворобу реєстрували виключно в Великобританії, згодом її було виявлено в Норвегії. Згодом, коли епідемія *BSE* стала згасати, й було запроваджено контроль над годівлею тварин тканинами великої рогатої худоби з високим ризиком, *FSE* стала реєструватись спорадично. Однак ця хвороба має тривалий інкубаційний період, й спорадичні випадки все ще можуть виникати у домашніх кішок і зоопаркових тварин (Aldhous P., 1990; Von Beat Hoernlimann, 2001; Wyatt et al., 1990).

У період з 1990 по 2007 рік у всьому світі було діагностовано майже сотню випадків *FSE* у домашніх котів і приблизно 20 випадків у інших котячих. Переважна більшість хворих домашніх котів (89) була виявлена у Великобританії, де про 10–16 випадків захворювань котів на *FSE* повідомляли щороку між 1990 і 1994 роками, 2–8 випадків реєструвалися щорічно з 1995 по 1999 рік, і жодного випадку не було зареєстровано з 2001 року. Більшість випадків, хоча і не всі, траплялися у кішок, народжених до введення заборони на корми виготовлені з білків жуйних. В інших країнах було зареєстровано лише п'ять випадків захворювання серед домашніх котів, включаючи останній випадок, який стався у Швейцарії в 2003 році. Також вважають, що більшість зоопаркових котів були інфіковані у Великобританії, й деякі з них захворіли після того, як були перевезені до інших країн. Справжня захворюваність *FSE* під час епізоотії

*BSE* є невизначеною, оскільки вона могла бути недостатньо діагностованою або заниженою. За деякими даними, щорічна захворюваність у розпал епізоотії у Великобританії становила 10–15 випадків на мільйон кішок. Одне дослідження клінічно підозрілих випадків у 1990–1997 роках (головним чином у Великобританії) показало, що жодна зі 192 кішок не мала гістопатологічних ознак цього захворювання, а інфекційні пріони були виявлені лише в одному разі зі 173 проб від тварин досліджених на ці білки. Ретроспективне дослідження не виявило жодних доказів *FSE* у 286 кішок, які померли від неврологічних розладів до 1990 року. Нещодавнє спостереження, проведене в Італії, не виявило випадків *FSE* у 110 зразках від кішок з неврологічними ознаками (Wyatt J.M. et al., 1991; Baron T. et al., 1997; Aguzzi A. et al., 2004; Bradshaw J.M. et al., 2004; Bencsik A. et al., 2009; DEFRA, 2016; Kim H.H. et al., 2020).

**Характеристика збудника.** За допомогою імуногістохімії, пріон-тестів (*Western blot*, ІФА), електронної мікроскопії у мозку загиблих котів було виявлено наявність патологічного пріона (*PrP<sup>Sc</sup>*) та скрепі-асоційованих фібрил (САФ) (WHO, 1995). Проведений порівняльний аналіз показав подібність клінічних симптомів, інкубаційного періоду, патологічних змін у мозку трупів котятчих і великої рогатої худоби. Після зараження лабораторних тварин інфекційним матеріалом від великої рогатої худоби та котятчих клінічні симптоми, інкубаційний період, гістологічні зміни мозку були також подібними. Тривалість інкубаційного періоду в мишей, експериментально інфікованих збудником спонгіформної енцефалопатії котятчих, становив від 304 до 573 днів, що майже не відрізняється від того, який реєструють у мишей, заражених патологічним пріоном великої рогатої худоби, хворої на губчасту енцефалопатію. Отже, було доведено, що *FSE* спричинюється тим самим агентом, який спричинює *BSE* у великої рогатої худоби.

Один випадок *TSE* у домашнього кота, про який повідомлялось в 1998 році, був спричинений пріоном, який відрізнявся від збудника *BSE*. Дослідники навіть вказували на те, що це міг бути новий тип *FSE*. Про інші випадки зараження котів цим пріоном не повідомлялось.

В одному з досліджень повідомлялось, що інфекційність зберігається протягом як мінімум 265 днів в стічних водах або фосфатно-сольовому буфері в лабораторних умовах. Пріони можуть щільно зв'язуватися з деякими поверхнями, включно з нержавіючою сталлю й пластиком, без втрати інфекційності. Пріони, зв'язані з металом,

стають значно стійкішими до знезараження. В деяких дослідженнях було показано, що пріони *BSE* більш стійкі до дезактивації (наприклад, до нагрівання), ніж інші пріони.

Для ефективного знезараження пріонів на обладнанні й поверхнях традиційно рекомендують 1–2 *N* розчин гідроксиду натрію або розчин гіпохлориту натрію, який містить 2% вільного хлору (20 000 частин на мільйон). Поверхні слід обробляти більше однієї години за 20°C (68°F). Для знезараження обладнання рекомендують нічну дезінфекцію. За допомогою очищення перед дезінфекцією видаляють органічні матеріали, які можуть захистити пріони. Ефективними вважають фенольні дезінфектанти, різні лужні й ферментативні детергенти (хоча ефективність конкретних агентів в межах цих класів варіюється), газову плазму з перекисом водню, радіочастотну газову плазму, додецилсульфат натрію з оцтовою кислотою, мідь з перекисом водню й інші. Окремі лабораторії попередньо обробляють тканини мурашиною кислотою (98%), щоб знизити інфекційність, перед тим, як розрізати тканинні блоки (Pearson G.R. et al., 1992; Irani D.N., 2001; Aguzzi A. et al., 2004; Doherr M.G., 2007; Iulini B. et al., 2008; CFIA, 2015; DEFRA, 2016).

**Епізоотологія.** СЕК уперше було описано у 1990 р. у Великій Британії у 5-річної сіамської кішки (Wyatt et al., 1990). На кінець 2004 р. кількість випадків спонгіформної енцефалопатії у домашніх котів становила понад 100. Здебільшого хворобу реєстрували у Великій Британії (близько 90% випадків), у поодиноких випадках у Норвегії, Ірландії, Італії, Ліхтенштейні, Швейцарії. Зазвичай хворіли коти віком від 4 до 9 років (у середньому 6,6 років)(Wyatt S.J. et al., 1993; Iulini B. et al., 2008; Orge L. et al., 2021).

Крім того, випадки *FSE* були виявлені у диких котячих, які перебували в зоопарках Великобританії, Ірландії, Франції, Німеччини та Австралії. Цікаво, що у всіх цих випадках, за винятком двох, дикі котячі походили із зоопарків Великобританії (Kirkwood J.K., Cunningham A.A., 1994).

Слід зазначити, що саме у Великій Британії вперше зареєстровані й набули значного поширення пріонні інфекції в інших видів тварин (скрепі овець і кіз, губчаста енцефалопатія великої рогатої худоби тощо) і людей (хвороба Крейцфельда-Якоба). Крім домашньої кішки, *FSE* реєструвався у домашніх кішок (*Felis silvestris catus*), диких котів (*Felis silvestris*), які утримуються у неволі, включно з гепардами (*Acinonyx jubatus*), пумами (*Puma [Felis] concolor*), оцелотами (*Leopardus [Felis] pardalis*), тиграми (*Panthera tigris*), левами

(*Panthera leo*), азієськими золотими котами (*Catopuma temminckii*) і азієськими леопардовими котами (*Prionailurus [Felis] bengalensis*). У диких (зоопаркових) котячих *FSE* також вперше було виявлено у Великій Британії або у тварин, які народилися в англійських зоопарках і були експортовані в інші країни (Австралію, Францію) (Kirkwood, J.K., Cunningham A.A., 1994; Baron T. et al., 1997; Iulini B. et al., 2008; Bencsik A. et al., 2009; DEFRA, 2016). Клінічні ознаки та патологічні ознаки захворювання подібні у всіх сприйнятливих видів *Felidae* (Wells G.A.H., Wilesmith J.W., 2004; Hewicker-Trautwein M., Bradley R., 2006).

Велика рогата худоба є основним господарем *BSE*, пріона, який спричинює *FSE*. Цей агент також нечасто реєструється у кіз, а також в екзотичних жуйних тварин і лемурів в зоопарках. Експериментально він передається через корми вівцям, нелюдиноподібним приматам, норкам (*Mustela vison*) і європейським благородним оленям (*Cervus elaphus elaphus*). В інформаційному бюлетені з *BSE* є додаткові відомості про цей пріон у великої рогатої худоби й інших тварин, крім котячих.

Вважається, що пріон *BSE* передається котам, коли вони споживають забруднені *BSE* тканини від інфікованих тварин. Адже перероблення або обробка не знищують цей агент. Експерименти показують, що велика рогата худоба й вівці легше заражаються протягом перших декількох місяців життя, але невідомо, чи більш сприйнятливі до збудника *FSE* котенята порівняно з дорослими котами. Горизонтальна передача інфекції між кішками не зареєстрована, й останнє вважається малоімовірним; однак збудника було виявлено в нирках деяких котячих, й не виключається виділення збудника з сечею.

Дикі зоопаркові котячі заразилися після згодовування їм ураженого *PrP<sup>Sc</sup>* м'яса, зокрема кісток хребта разом зі спинним мозком від корів, хворих на губчасту енцефалопатію, які забивалися під час інкубаційного періоду. Отже, штам пріона, який спричиняв захворювання котячих на спонгїформну енцефалопатію, проник в організм котів від великої рогатої худоби, хворої на губчасту енцефалопатію, селекціонувався та адаптувався до нового виду, спричинюючи хворобу (Irani D.N., 2001; Verbytskyi P.I., 2005; Promedmail, 2003, 2007; Iulini B. et al., 2008). В спеціальній літературі є повідомлення про можливу передачу збудника від матері одному з нащадків, власне одному з трьох котенят гепарда, які знаходились у гнізді. За два місяці до народження і годівлі молодих гепардів у матері проявились перші ознаки *FSE*. Не можна повністю виключити заражене



м'ясо як фактор передачі інфекції у нащадків; однак під час годівлі прикладались значні зусилля для знезараження м'яса, як можливого джерела пріона *BSE*, і тканини з високим ризиком, такі як мозок вилучались. Пріони передаються ятрогенним шляхом у деяких інших видів (наприклад, через заражені хірургічні інструменти або під час переливання крові), проте така передача також можлива у котів (Bencsik A. et al., 2009).

До цього часу не відомо, чи хвороба передається горизонтальним шляхом (від kota до kota). Але, враховуючи можливе зараження норок трансмісивною енцефалопатією під час укусів (бійки між норками) та канібалізму, не виключається горизонтальна передача інфекції під час поїдання дикими котами новонароджених котенят, укусів, подряпин (Zanusso G. et al., 1998; Irani D.N., 2001; Verbytskyi P.I., 2005).

Не існує жодних підтверджень того що пріон *FSE* патогенний для людини. Описано випадок, коли в 1998 р. губчаста енцефалопатія спостерігалась одночасно у kota і його господаря (Zanusso G. et al., 1998). Проте у чоловіка була виявлена спорадична (генетична) форма хвороби Крейцфельда-Якоба, але не форма, асоційована з *BSE* (*vCJD*), проте клінічні ознаки у kota, так само відрізнялись від *FSE*. Пріони які були виділені як від людини, так і від kota виявилися подібними, але відрізнялися від пріона *BSE*. Невідомим залишився факт хто (людина чи тварина) був першопричиною зараження, чи це було загальне джерело зараження для людини й kota (Irani D.N., 2001; Promedmail, 2003, 2007; Iulini B. et al., 2008; DEFRA, 2016).

**Патогенез.** У котячих пріони *BSE* (*FSE*) були виявлені в ЦНС, сітківці, зоровому нерві, периферійних нервах, спинномозкових гангліях, наднирниках, нервовій системі тонкої кишки й деяких лімфоїдних органах, особливо зв'язаних з ними. В одному з досліджень на домашніх котках показано, що ці пріони накопичуються в лімфоїдних тканинах незначно: іноді пріони виявляються в селезінці і клубовій кишці, але не виявляються в лімфатичних вузлах, мигдаликах або тимусу. Однак деякі дослідження в гепардів виявили ці агенти в різних лімфатичних вузлах і мигдаликах, а також в селезінці. Деякі групи дослідників виявили пріони в тканинах нирок домашніх і зоопаркових котів імуногістохімічними методами. Деякі дослідження підтвердили наявність інфекційних пріонів в нирках гепардів із застосуванням біопроби на мишах (Irani D.N., 2001; Lezmi S. et al., 2003; Iulini B. et al., 2008; Lezmi S. et al., 2010).

**Клінічні ознаки та перебіг.** Інкубаційний період *FSE* у гепардів оцінюється від 4,5 до 8 років. Інкубаційний період у домашніх котів не встановлений. Всім домашнім котам з *FSE* було щонайменше 2 роки, і більшість з них були у віці від 4 до 9 років. У всіх випадках симптоми хвороби розвивалися повільно і посилювалися протягом декількох тижнів чи місяців від початку клінічного періоду. Зміни в поведінці, такі як нехарактерна агресія або незвичайна боязкість і приховування, зазвичай спостерігаються спочатку. Здебільшого діагностують симптоми, пов'язані зі зміною поведінки (агресивність, лякливість), підвищення тактильної чутливості та чутливості на звукові подразники, порушення координації рухів (атаксія, повзання під час ходи, залежування), а також гіперсаливацію (посилене виділення слини), поліфагію (підвищення апетиту). Уражені кішки часто погано оцінюють відстань (гіперметрія). У деяких кішок розвивається швидка, з присіданнями, гіперметрична хода (Wyatt J.M. et al., 1991; Wells G.A.H., Wilesmith J.W., 2004; Hewicker-Trautwein M., Bradley R., 2006).

Першою клінічною ознакою хвороби є порушення поведінки. Коти стають дуже агресивними до своїх господарів, інших людей та тварин без будь-якої провокації чи причини на це. В інших випадках коти стають лякливими, ховаються, відмовляються від контакту і навіть утікають з дому. У поодиноких тварин реєструють відсутність реакції на оклики, вони не координують своїх дій.

Гіперестезія поширена, особливо коли кішку збуджують звуком або дотиком. Деякі кішки можуть мати аномальний нахил голови, тремтять, кружляють, мають пустий погляд. Також повідомлялося про надмірне слиновиділення, погіршення догляду за собою, поліфагію, полідипсію (збільшення спраги) та розширені зіниці. Під час погладжування по шерсті коти виявляють підвищену чутливість шкіри – гіперестезію (гіперсенсібілізацію), трясуть головою.

У всіх котячих, хворих на спонгіформну енцефалопатію, розвиваються значні порушення координації рухів. Спочатку діагностується атаксія задньої частини тіла, яка з прогресуванням хвороби поширюється і на передню. Реєструються кругові рухи. На початку хвороби тварини швидко, великими кроками бігають, згодом повзають, залягають.

Крім того, в них порушуються акти дефекації та сечовиділення, вони стають некоординованими, довільні, без природної пози. Іноді хворі коти стають агресивними.

Коти не доглядають свою шерсть, тому вона стає скуйовдженою, тьмяною. На більш пізніх стадіях захворювання спостерігається

сонливість й можуть виникати судоми. Також спостерігаються підвищене слиновиділення й розширення зіниць. Під час клінічного дослідження в окремих котів реєструють розширення зіниці ока або повну відсутність її скорочення на світлові подразники.

На пізніх стадіях захворювання часто спостерігається сонливість і можуть виникати судоми. Подібні клінічні ознаки були зареєстровані у котів зоопарку. Як тільки з'являються ознаки *FSE*, хвороба неблаганно прогресує і закінчується смертю. Смерть (або евтаназія через виснаження) зазвичай настає протягом від кількох тижнів до 3 місяців (Irani D.N., 2001; Kelly D.F. et al., 2005; Verbytskyi P.I., 2005; Doherr M.G., 2007; Bencsik A. et al., 2009; Imran M., Mahmood S. 2011; DEFRA, 2016).

**Патолого-анатомічні зміни.** За *FSE* не виявляють серйозних уражень, окрім неспецифічних змін через хворобу. Типові гістопатологічні ураження обмежуються центральною нервовою системою. Нейрональна вакуолізація і незапальні губчасті зміни сірої речовини є патогномонічними і є більш інтенсивними в медіальному ядрі таламуса й базальних ядрах (Sigurdson C.J., Miller M.W., 2003; Wyatt J.M. et al., 1991). Вакуолі в мозку маленькі, округлої форми, порожні. Часто у нейронах утворюються порожнечі. У більшості випадків ураження спостерігаються у середньому мозку, корі великого мозку, довгастому мозку, блукаючому нерві. У спинному мозку реєструється вакуолізація в цитоплазмі нейронів (Ryder S.J. et al., 2001; Irani D.N., 2001; Verbytskyi P.I., 2005; Promedmail, 2003, 2007; Bencsik A. et al., 2009; Hilbe M.M. et al., 2009).

Неврологічні зміни полягають у губчастій дегенерації нейропіла в сірій речовині головного і спинного мозку. На додаток до ЦНС, бляшки *PrP<sup>Sc</sup>florid* спостерігалися в периферійній нервовій системі, сітківці, лімфоретикулярній системі, селезінці, нирках та надниркових залозах (Bencsik et al., 2009; Eiden et al., 2010; Lezmiet al., 2003; Ryder et al., 2003; Sigurdson and Miller, 2003).

Оскільки люди є сприйнятливими до *BSE* (небезпечний аліментарний шлях зараження), рекомендується вживати заходів безпеки під час проведення розтину підозрілих на *FSE* котів або під час роботи з тканинами високого ризику (головний, спинний мозок тощо). *BSE*, як правило, класифікують як патоген який потребує роботи з ним у боксах біобезпеки 3 рівня (*BSL-3*) (Aguzzi A. et al., 2004; DEFRA, 2016).

**Діагностика.** Не існує тестів для постановки діагнозу в живих тварин хворих на *FSE*. Це захворювання зазвичай діагностується

після смерті шляхом виявлення пріонів у ЦНС за допомогою імуно-блотингу або імуногістохімії (Irani D.N., 2001; Hilbe M.M. et al., 2009; Eiden M. et al., 2010). У деяких випадках діагноз можна підтвердити шляхом виявлення характерних пріонних фібрил (так званих фібрил, асоційованих зі скрепі) за допомогою електронної мікроскопії в екстрактах мозку. Цей тест має низьку чутливість, але він може бути корисним під час роботи з автолізованим мозком. Гістологічне дослідження мозку може бути дуже корисним (хоча воно, як правило, не використовується як єдиний підтверджуючий тест), але деякі тварини на ранніх стадіях захворювання можуть мати незначні губчасті зміни або зовсім не мати їх (Promedmail, 2003, 2007; Kelly D.F. et al., 2005).

Високочутливі аналізи, включаючи циклічну ампліфікацію неправильно згорнутого білка (*protein misfolding cyclic amplification; PMCA*) і метод індукованої вібрацією конверсії (*quaking-induced conversion; QuIC*), наразі доступні переважно в дослідницьких лабораторіях. Ці методи виявляють мінімальні кількості пріонів за їх здатністю перетворювати *PrP<sup>c</sup>* (нормальний клітинний білок) у пріон *in vitro*. *PMCA* та інші сучасні тести використовувались для виявлення пріонів *FSE* у гепардів. *BSE* також можна виявити шляхом зараження мишей (біопроба); однак інкубаційний період у кілька місяців робить цю методику непрактичною для рутинної діагностики (Gough K.C. et al., 2014; DEFRA, 2016; Silva J. et al., 2021).

**Диференційна діагностика.** Спонгіформну енцефалопатію котятих слід диференціювати від інших захворювань, які проявляються симптомами ураження центральної нервової системи (*сказ, лейкоз, токсоплазмоз, вірусний імунодефіцит, вірусний енцефаліт, пухлини мозку, гіпоплазію мозочка, травми мозку, печінкову енцефалопатію, дефіцит вітаміну В<sub>1</sub>, інтоксикації*) (Irani D.N., 2001; Promedmail, 2003, 2007; DEFRA, 2016).

**Профілактика і заходи боротьби.** У разі виявлення підозри на подібне захворювання у котів слід негайно повідомити про це в установи державної ветеринарної медицини.

*FSE* можна запобігти, якщо не згодовувати кішкам тканини, які можуть містити пріони. У багатьох країнах заборонено вживати в корм для домашніх тварин тканини, які мають високий ризик передачі пріону *BSE* (матеріали із зазначеним ризиком або *SRM*). Це такі тканини як головний і спинний мозок великої рогатої худоби (очі, мигдалики тощо) старшого віку. Деякі країни також регулюють *SRM* від дрібних жуйних тварин, і в зоопарках заборонено згодовувати

тваринам тканини високого ризику. Існує заборона щодо ввезення й використання консервованих і сипких кормів для котів із країн, в яких реєструють *BSE*. Профілактика й боротьба з *BSE* у великої рогатої худоби та інших жуйних також знижує ризик захворювання для кішок. Слід уникати можливої ятрогенної передачі під час переливання крові або через хірургічні інструменти.

Оскільки пріони можуть виживати в навколишньому середовищі роками і важко піддаються знищенню шляхом дезінфекції, слід вживати заходів, щоб уникнути забруднення поверхонь та обладнання під час таких процедур, як розтин. Одноразові паперові листи з пластиковим покриттям можна використовувати для захисту столів та інших поверхонь. Потрібно використовувати одноразові інструменти та робочий одяг (Irani D.N., 2001; Promedmail, 2003, 2007; Aguzzi A. et al., 2004; DEFRA, 2016).

## **СПОНГІФОРМНИЙ МІОЗИТ З ПРІОН-АСОЦІЙОВАНИМИ ВКЛЮЧЕННЯМИ**

У 1993 році в групі вікових міопатій звернули увагу на осіб, які страждали на міозит з незвичайними тільцями-включеннями. Такі хвороби часто описують як поступальні хвороби м'язового виснаження у літніх людей. Здебільшого міозит із наявністю телець-включень виявляється у віці 50–60 років і старших.

Хвороба характеризується плавно поступальною слабкістю, переважно супроводжується міалгією, яка не проходить в разі застосування стероїдної терапії. В окремих випадках перебіг захворювання миттєвий. В спеціальній літературі описані родинні й спорадичні форми.

Під час гістологічного дослідження спостерігається некротична міопатія з наявністю вакуоль. Вакуолі в заморожених зрізах містять спіралевидні конгофільні нитки. Під час електронної мікроскопії ці вакуолі становлять собою чітко обмежені маси амілоїдоподібних філаментів (Nonno R. et al., 2019; Bizzi A. et al., 2020; Minikel E.V. et al., 2016).

## **ТРАНСМІСИВНА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ НОРОК**

Трансмівна енцефалопатія норок (англ.: *Transmissible mink encephalopathy*; абр. назви: *TME*; *ТЕН*) – пріонна хвороба, яка характеризується поступальним ураженням центральної нервової системи, дегенеративними змінами в мозку і загибеллю тварин.

**Історична довідка та економічні збитки.** Хворобу вперше виявили в Міннесоті й Вісконсині в 1947 році, а згодом після тривалої перерви вона знову була зареєстрована в 1961 в Вісконсині, в 1963 році в господарствах США (Айдахо, Міннесоті й Вісконсині) і Канади. Загалом останні спалахи на території США зареєстровані в 1985 році (Вісконсин). Хворобу також реєстрували в європейських країнах (Фінляндія, Німеччина), в 1979–1980-х роках у РРФСР та інших республіках колишнього СРСР). Хвороба завдає значних збитків звірівницьким господарствам (Hadlow W.J., Karstad L., 1968; Barlow R.M., 1972; Marsh R.F., 1972; Marsh R.F., Hadlow W.J., 1992). Після спалахів захворювання у США американські дослідники вказували, що можливим джерелом могло бути м'ясо отримане після забою молочних корів і згодоване норкам. Радянські дослідники вказували на можливий зв'язок із тушами овець, загиблих від скрепі і які після перероблення згодовувались норкам (Mathiason C. K., 2017).

**Характеристика збудника.** Не так давно отримані відомості про те, що збудник *TME* може бути атиповим варіантом збудника губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (*BSE*) (Robinson M.M. et al., 1995; Namir A.N. et al., 2006).

*TME* є членом групи трансмісивних губчастих енцефалопатій (*TSE*), тобто групи нейродегенеративних захворювань, спричинених пріонами, власне інфекційними білками, які ймовірно, реплікуються шляхом перетворення нормального клітинного білка в копії пріона. Норки, швидше за все, отримують пріон *TME*, коли їдять заражений корм, в разі канібалізму або укусів інших норок (Namir A.N. et al., 2005).

Два різних штами *TME*, “*hyper (HY)*” і “*drowsy (DY)*”, були виділені після зараження хом'яків. Відмінності стосувались клінічних ознак, тривалості інкубаційного періоду, невропатологічних уражень та біохімічних профілів (Bessen R.A., Marsh R.F., 1992).

Під час спалахів захворювання уражувалися лише дорослі норки. В одному господарстві описували захворювання самиць-матерів, в той час молодняк від них, який утримувався з ними поряд й вживав той самий корм, не хворів. *TME* завжди закінчувалась смертю після появи клінічних ознак. Рівень смертності на ранчо варіював, але іноді досягав 60–90%; в одному з вогнищ загинула вся доросла норка. Окремі спалахи тривали декілька місяців, проте хвороба в неблагополучних господарствах більше не повторювалась.

Норки також виявились сприйнятливі до збудника хронічної виснажливої хвороби (*CWD*) після внутрішньомозкового зараження,

хоча пероральне зараження не вдалося. Збудник губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (*BSE*) також є кандидатом на ймовірного збудника *TME*. Деякі спалахи *TME* дійсно виникали після згодування їм м'яса великої рогатої худоби або м'ясо-кісткового борошна після перероблення загиблих тварин. Пероральне зараження норок пріонами *BSE* вдається й розвиваються неврологічні ознаки захворювання. Досліди проведені на трансгенних мишах показали, що збудник *TME* найбільше нагадує *BSE L*-типу, власне атипичний пріон *BSE*, який нечасто виявляється у великої рогатої худоби й має більш низьку молекулярну масу, ніж класичний пріон *BSE*. Вважається, що *L-BSE* виникає у великої рогатої худоби спонтанно, як і деякі пріонні хвороби у інших видів (наприклад, спонтанна хвороба Крейтцфельда-Якоба у людей)(Barlow R.M., Rennie J.C., 1970; Hanson R.P. et al., 1971; Marsh R.F. et al., 1991; Bessen R.A., Marsh R.F., 1992; Robinson M.M. et al., 1994; Harrington R.D. et al., 2008).

Є повідомлення, що пріони збудники *TME* менш стійкі у довікллі ніж інші. Адже *TME*, не рееструють у наступні роки на тих же фермах, де хвороба рееструвалась у попередні роки. Зазначалось також, що в деяких лабораторних експериментах збудник *TME*, адаптований до хом'яків, руйнується швидше, ніж деякі інші пріони (наприклад, *CWD*).

Збудник стійкий, як і більшість пріонів, до багатьох дезінфектантів, у тому числі формаліну й спирту. Вони також стійкі до нагрівання, ультрафіолетового опромінення, мікрохвильового й іонізувального випромінювання, особливо коли вони захищені органічним матеріалом або консервовані альдегідними фіксаторами, або коли титр пріонів є значним. Пріони можуть міцно зв'язуватися з деякими поверхнями, включно з нержавіючою сталлю і пластиком, без втрати інфекційності. Пріони, зв'язані з металом, ймовірно, доволі стійкі до знезараження.

Є декілька методів ефективного знезараження пріонів. Для обладнання й поверхонь традиційно рекомендують 1–2 *N* розчин гідроксиду натрію або розчин гіпохлориту натрію, який містить 2% вільного хлору (20 000 частин на мільйон). Поверхні слід обробляти більше одної години за 20°C (68°F). Для обладнання рекомендують нічну дезінфекцію. Перед дезінфекцією проводять очищення поверхонь, видаляють органічні матеріали, які можуть захистити пріони (функція “екрану”). В експериментальних дослідженнях добре себе показали лужні й ферментативні детергенти (хоча ефективність конкретних агентів в межах цих класів значно варіює), газова плазма

з перекисом водню, радіочастотна газова плазма, додецилсульфат натрію з оцтовою кислотою, мідь з перекисом водню тощо. В окремих лабораторіях попередньо обробляють тканини мурашиною кислотою (98%), для зниження інфекційності, перед тим, як розрізати тканинні блоки (Fichet G. et al., 2004, 2007 Rogez-Kreuz C. et al., 2009; Rutala W.A., Weber D.J., 2010).

Фізичне знищення пріонів (наприклад, на хірургічних інструментах) може бути здійснене автоклавуванням (за неповного завантаження автоклава) за 134° С (273° F) протягом 18 хв за 30 фунтах / дм<sup>2</sup>. Деякі типи зразків не можуть бути ефективно знезаражені навіть за рекомендованих температур. Наприклад, повідомлялось, що частинки тканин, які містять пріони *BSE*, вимагають стерилізації вологим теплом за температури  $\geq 155^{\circ}\text{C}$  ( $311^{\circ}\text{F}$ ) протягом 20 хвилин й витримують навіть ці температури, якщо зразок не був вологим. Сухий жар менш ефективний, ніж волога обробка. Адаптовані до організму хом'яка пріони скрепі можуть витримувати сухий жар за температури 360°С (680°F) протягом години, й одна група дослідників навіть повідомляла, що інфекційність зберігається навіть під час спалювання за 600°С (1112°F). Комбінування хімічного й фізичного знезараження може бути більш ефективним, ніж будь-яка процедура окремо, й в загальній частині книги нами з посиланнями на авторів досліджень наведені ефективні комбінації хімічних агентів і автоклавування. Навіть найбільш жорстка комбінація хімічної й фізичної дезінфекції не гарантує знищення всіх пріонів в усіх типах зразків (Brown P. et al., 2000; Lehmann S. et al., 2009).

**Епізоотологічні відомості.** Хворіють дорослі норки, старші 1 року. Джерело збудника інфекції – хворі норки, провідний фактор передачі – контамінований корм. Тварини заражаються під час поїдання інфікованого м'яса (норок або овець), субпродуктів, тушок і трупів, в разі канібалізму. Захворюваність становить 10–100 %, летальність 100 %.

Okulova I.I., Zhdanova O.V. (2016) вказують, що наприкінці 90-х – початку 2000 років в багатьох звірівницьких господарствах Кіровської та Костромської області РФ практичні ветеринарні лікарі спостерігали прояв у норок губчастих енцефалопатій, які реєструвались після згодовування їм баранячих голів у сирому вигляді. Спостерігали захворювання дорослих звірів і молодняку минулого року народження, серед цуценят до року захворювання не виявляли. Захворілі звірі гинули.



За природних умов *TME* був зареєстрований лише у норок, яких вирощують на фермах; однак у деяких видів тварин вдається експериментальне зараження. Єнотів (*Procyon lotor*) легко вдається заразити як пероральним, так і парентеральним шляхом. У разі внутрішньомозкового внесення матеріалу вдається заразити наступні види тварин: смугастих скунсів (*Mephitis mephitis*); тхорів (*Mustela putorius*), лісових куниць (*Martes americana*), букових куниць (*Martes foina*), велику рогату худобу, овець, кіз, хом'яків; різних нелюдиноподібних приматів, таких як макаки-резус (*Macaca mulatta*), макаки-явакі (*Macaca fascicularis*), культехвостих макак (*Macaca arctoides*); білячих мавп (*Saimiri sp.*). Природна сприйнятливість цих видів невідома, оскільки внутрішньомозкове зараження дозволяє обійти пріонам нормальні видові бар'єри. Велика рогата худоба, вівці, кози, хом'яки, єноти, смугасті скунси й білячі мавпи відносно легко заражаються внутрішньомозковим шляхом, але тривалий інкубаційний період у тхорів свідчить про існування видового бар'єру. Миші дикого типу не сприйнятливі до *TME* (Eckroade R.J. et al., 1970, 1973; Bartz J.C. et al., 1994; Irani D.N. et al., 2001; Hamir A.N. et al., 2004; Robinson M.M. et al., 2004, 2005; Hildebrandt H., 2014).

Хоча в нелюдиноподібних приматів і гуманізованих мишей виникають неврологічні хвороби після інтрацеребральної інокуляції пріонів *TME*, не існує жодних доказів, що цей агент може легко передаватись людині. Однак слід проявляти обережність відносно будь-якого недостатньо вивченого пріонного захворювання, особливо того, яке може бути пов'язане з *BSE*; адже потрапляння аліментарним шляхом класичних пріонів *BSE* може спричинювати у людей варіант хвороби Крейцфельда-Якоба (*vCJD*).

Вважають, що *TME* передається аліментарним шляхом. Спалахи, ймовірно, відбуваються, коли норка вживає пріони з контамінованим кормом. Дослідження на хом'яках показують, що рани на язиці можуть сприяти передачі інфекції. Пріони *TME* можуть також передаватися експериментально між норками шляхом внутрішньом'язової ін'єкції, й деякі дослідники вказували, що рани на слизових оболонках або шкірі можуть бути додатковими шляхами передачі. Під час спалаху збудник *TME* може розповсюджуватися між тваринами які знаходяться в одній клітці із-за канібалізму.

*TME* не передається вертикально, і норки, народжені під час спалаху в одному з господарств, не мали ознак захворювання у наступному році.

Пріони можуть залишатися заразними після проходження через травну систему птахів (ворони) і ссавців (койоти).

Нині жуйні тварини й оленячі, вирощені на фермах, є єдиною домашньою худобою, яка, як відомо, є природним носієм пріонів. Найбільш високі концентрації класичних і атипичних *BSE*, скрепі, *CWD* та інших пріонів здебільшого виявляються в ЦНС; однак ці агенти також виявляються в різних лімфоїдних тканинах (особливо в тканинах, пов'язаних з кишковим трактом), периферійних нервах, наднирниках і деяких інших тканинах, залежно від виду господаря, конкретного пріона й стадії захворювання. *L-BSE* ще досконало не вивчений, проте пріонний білок крім ЦНС, були виявлені в периферійних нервах, нервових гангліях, сенсорних рецепторах і наднирниках. В одному з досліджень пріон *L-BSE* було виявлено в м'язах інфікованої великої рогатої худоби й гомогенатах із м'язів. Навіть незначною кількістю пріонів можна заразити тварину, а м'ясо можна контамінувати пріонами з інших тканин під час забою й перероблення (Baron T. et al., 2007; Harrington R.D. et al., 2008; Comoy E.E. et al., 2013; Hildebrandt H., 2014). Вчені дотримуються думки, що норки є дозорними для пріонів великої рогатої худоби *L*-типу, які присутні в популяціях останніх рівнях (можливо, спорадично). Враховуючи ту обставину, що пріони великої рогатої худоби *L*-типу передаються трансгенним мишам, які експресують людський *PrP* зі значною ефективністю, ці результати, ймовірно мають значення для охорони здоров'я людини (Béringue V. et al., 2008; Comoy E.E. et al., 2013).

**Патогенез.** Пріони *TME* були виявлені в експериментально заражених інтрацеребрально норок в деяких лімфоїдних тканинах (включно з селезінкою), брижових й заглиткових лімфатичних вузлах, тимусі, нирках, печінці, кишківнику і слинних залозах. З усім тим, передача збудника від норки до норки вважається нечастою. Описані випадки коли цуценята не хворіли, хоча їх мати (самиця) була хворою. Крім того, дорослих норок здебільшого утримують індивідуально в клітках, що робить передачу від норки до норки малоймовірною (Sigurdson C.J., Miller M.W., 2003; Schneider D.A. et al., 2012).

**Клінічні ознаки.** Інкубаційний період триває 6–12 міс. Перебіг повільний, поступальний. Після експериментального зараження клінічні ознаки можуть проявлятися вже через 5 міс. В дорослих єнотів, заражених аліментарним шляхом клінічні ознаки захворювання проявились через 10 міс. Тривалість захворювання від початку прояву до загибелі норок становить 2–8 тижнів.

Під час клінічного огляду хворих тварин були виявлені ознаки, найбільш характерні для енцефалопатії – збудження й апатія. Ранні клінічні ознаки можуть бути малопомітними й характеризуються утрудненим прийманням корму й ковтання, тваринки перестають “доглядати” за собою. Уражені норки часто забруднюють гніздо або розкидають фекалії по клітці. Ранніми ознаками захворювання також вважається зміна зовнішнього виду норок. Згодом тваринки можуть стати гіперзбудливими й нав’язливо кусаються. В них своєрідним чином вигинається хвіст (хвіст часто вигнутий на спину як у білок), хутро стає грубим, тьмяним, забрудненим, знижується маса тіла. У разі збудження норки бігають по клітці, часто здійснюють рухи по колу, кусаючи себе за хвіст. Також може спостерігатися неузгодженість дій, стискання щелеп і членоушкодження (особливо хвоста).

Самиці стають байдужими до своїх цуценят, намагаються пролазити через отвори залізної сітки з клітки. Спостерігається забування набутих навичок, норки випорожнюються в усіх кутах клітки, розкидають кал і корми по усій клітці (зникає інстинкт чистоти). В окремих норок хвіст був піднятий догори, як у білок. Рухи стають уповільненими, з’являється хисткість заду, поступово порушується координація рухів, спостерігають атаксію. В частини тварин зростає збудження, яке переходить в агресивність. Норки надзвичайно емоційно реагують на звуки й доторкання, кидаються на об’єкти. Період збудження змінюється сонливістю, норки довго лежать в хатках, прокидаються лише на короткий час. Прогресує хисткість ходи, атаксія задніх кінцівок; потім збудження змінюється пригніченням – розвиваються сонливість, заціпеніння; порушення координації рухів, легке дрижання переходить в конвульсії, епілептичні напади. Іноді спостерігають самопогризання. Наприкінці хвороби у тварин часто розвивається сліпота. Одні норки стають агресивними, інші – несміливими, лякливими й малорухливими. Перед смертю тварини збуджені, хапають зубами металевий дріт сітки і часто, вчепившись в сітку, гинуть. В останні 2–3 дні захворювання норки зовсім не їдять (анорексія), стають сонливими. У деяких тварин перед смертю спостерігали епілептичні напади з судомами (проте не часто), рухи по колу. Клінічні ознаки захворювання після їх виникнення прогресують і можуть зберігатися від 2 днів до 8 тижнів. Випадків одужання не виявляють.

В одному з експериментів у норки, перорально зараженої класичним агентом *BSE*, розвинулось фатальне неврологічне захворювання, що нагадувало *TME*. Однак тварини, як правило, ставали більш лагідними й слухняними, але не агресивними. Не було повідомлень про клінічні ознаки після перорального зараження норок *L-BSE*.

У єнотів, яких експериментально заражали пріонами *TME*, розвивались неврологічні симптоми, а саме летаргія, аномальні реакції на зовнішні подразники, зміна поведінки й порушення координації (Hildebrandt H., 2014).

**Патолого-анатомічні зміни.** Під час розтину загиблих норок змін у внутрішніх органах не спостерігають. У норок переважно виявляють виснаження, набряклість головного мозку, анемію, атрофію селезінки, дистрофію клітин мозку. Мікроскопічні зміни у мозку характеризуються збільшенням гліальних елементів, астроцитозом, вакуолізацією нейроглії, інфільтрацією, дегенерацією нейронів, наявністю амілоїдних бляшок. Окремі нервові клітини містять еозинофільні гранули. Ураження можуть реєструватись у таламусі й гіпоталамусі, варолієвому містку, довгастому мозку. Гістологічно виявляють дистрофію клітин мозку, негнійний менінгоенцефаліт, губчасту вакуолізацію нейронів сірої речовини головного мозку (Danilov E.P., 1984; Slugin V.S., 2004).

**Діагностика.** Діагноз встановлюють на основі епізоотологічних відомостей, характерних клінічних ознак і патолого-анатомічних змін, остаточний діагноз є завжди посмертним. Для підтвердження трансмісивної енцефалопатії норок від них відбирають для гістологічного дослідження фрагменти великих півкуль головного мозку, мозочка, які фіксують за загальноприйнятими методиками (Merkulov G.A., 1969; Okulova I.I., Zhdanova O.V., 2016). Під час мікроскопічного дослідження кори мозку й мозочка виявляють зміни, характерні для губчастої енцефалопатії (проліферація глії, склероз окремих нервових клітин, периваскулярний і перинуклеарний набряк, вакуолізація й астроцитоз цитоплазми нейронів. Головний мозок на гістологічних зрізах нагадував “губку”, що вважається характерним для енцефалопатії. Geller V.I. (2003) вважає характерними дистрофічними й некробіотичними ураженнями, які проявляються у вигляді (спонгіозності) сірої речовини й утворюються внаслідок вакуолізації нейронів і міжклітинної речовини. Під час лабораторного дослідження вакуолізацію спостерігають здебільшого в корі, амонових рогах (гіпокамп) і в ділянці бокових шлуночків головного мозку.

Як і всі трансмісивні губчасті енцефалопатії, як правило, діагностуються через виявлення пріонів в ЦНС, під час розтину трупа, із застосуванням імуноблотингу (вестерн-блотинг) або імуногістохімічних методів. Нечасто пріони виявляються і в інших тканинах експериментально заражених норок, але лише після того, як пріони виявлені в головному мозку. В одному з досліджень вивчалися

два швидких тесту на основі *ELISA*, які використовуються для нагляду за *TSE*, й виявилось що один із тестів був малоефективним, тобто виявляв не усі зразки інфікованої тканини (Schneider D.A. et al., 2012; USDA APHIS, 2002; Jennelle C.S. et al., 2009).

Гістологічне дослідження головного мозку може бути доволі корисним, хоча здебільшого воно не використовується як єдиний підтверджувальний тест, але в окремих норок (наприклад, у старих норок генотипу Чедіак-Хігаші) губчасті зміни можуть бути незначними або відсутніми.

Високочутливі сучасні аналізи, у тому числі циклічна ампліфікація неправильно згорнутого білка (*protein misfolding cyclic amplification; PMCA*) і метод індукованої вібрацією конверсії (*quaking-induced conversion; QuIC*), можуть використовуватися для виявлення незначної кількості пріонів. Проте методи не є широко доступними й не пройшли валідацію для *TME*. Ці методи дозволяють виявити незначну кількість пріонів за їх здатності перетворювати *PrP<sup>C</sup>* (нормальний клітинний білок) в інфекційні пріони *in vitro*. *TME* також може бути виявлений шляхом біопроб на мишах; однак інкубаційний період в декілька місяців показує що цей метод непрактичний для рутинної діагностики (Hildebrandt H., 2014).

**Диференційна діагностика.** Це захворювання слід диференціювати від сказу, хвороби Ауескі, ботулізму, алеутської хвороби норок, авітамінозу *B* і самопогризань.

Для виникнення *сказу* необхідні укуси хворими тваринами або носіями збудника. Звертають увагу на таку ознаку як агресивність. Остаточо виключення захворювання проводять методом РІФ або біопроб на білих мишах. *Хвороба Ауескі* й *ботулізм* можуть виникнути після потрапляння відповідно вірусу й ботуліністичного токсину з кормом. Звертають увагу на масовість й практично одночасність прояву (епізоотична характеристика хвороби Ауескі), розціси й самопогризання місць проникнення вірусу. Остаточо хворобу виключають методом біопроб або вірусологічними методами. За ботулізму інкубаційний період триває від 12 годин до 2–3 діб. Норки втрачають рухливість, м'язи тіла розслаблені, виявляють різке розширення очної щілини й зіниці, спостерігається сильна слинотеча. Згодом із-за паралічів задніх і передніх кінцівок звірі не встають на ноги й повзають на животі. Якщо взяти норку до рук, вона висить як "панчоха" (втрата тонусу м'язів), в деяких тварин спостерігається пронос і блювання. Алеутська хвороба перебігає повільно й супроводжується сильним виснаженням. На ризині виявляють тяжке

ураження нирок, печінки, селезінки, лімфатичних вузлів, шлунку й тонкого кишківника, чого не спостерігають під час трансмісивної енцефалопатії. Патогістологічним дослідженням за алеутської хвороби виявляють періартеріїти, у тому числі некротичні, гломеруло-нефрит, плазмоклітинну реакцію в різних органах.

Виключаємо також *авітаміноз В* й *самопогризання*, які переважно реєструються серед молодих тварин. За авітамінозу *В* на розтині в цуценят виявляють гіперемію головного мозку, ураження печінки, крововиливи під ендо-і епікардом, дерматити. Гістологічним дослідженням встановлюють жирову дистрофію і некроз гепатоцитів, зернисту і вакуольну дистрофію нейронів, проліферацію і дистрофію ендотелію судин. Самопогризання виникає під дією стресових факторів, проявляється збудженням, свербжею, розгризанням і травмуванням різних ділянок тіла з наступним нагноєнням цих тканин (Yatusevich A.I. et al., 2008).

**Профілактика і заходи боротьби.** У разі виявлення підозри на подібне захворювання у норки слід негайно повідомити про це в установи державної ветеринарної медицини.

Вакцин для профілактики або методів лікування *TME* не існує.

Заходи з профілактики й ліквідації хвороби включають: – недопущення занесення в господарство збудника з хворими норками; – ветеринарно-санітарний контроль кормів, які надходять у господарство; – заборону згодовування субпродуктів від овець і великої рогатої худоби, які потенційно можуть нести у собі пріони скрепі й *BSE*; – потенційно норки можуть заразитись збудником цього захворювання під час поїдання трупів тварин, які загинули від нього, проте клітковий індивідуальний метод утримання виключає такі можливості; – своєчасну діагностику, ізолювання, забій хворих і утилізацію тушок і ретельну дезінфекцію (Hildebrandt H., 2014).

## ФАТАЛЬНЕ РОДИННЕ БЕЗСОННЯ

Фатальне родинне безсоння (син. фатальна родинна інсомнія; англ. абр. *FFI*) – аутосомно-домінантна пріонна хвороба, яка може розвиватись за напрямками фатального родинного безсоння або спорадичного фатального безсоння. Є рідкісним родинним пріонним захворюванням, яке характеризується втратою сну, руховою та вегетативною гіперактивацією, та призводить до летальних наслідків. Патогномонічними ознаками є виражена та селективна дегенерація таламуса та нижньої оливи (розтальна частина довгастого мозку).

**Історична довідка.** Спадкове пріонне захворювання, яке вперше описане в 1986 році у членів італійської сім'ї (Lugaresi E. et al., 1986; Montagna P., 2011).

**Епідеміологічні відомості.** *FFI* пов'язана з міссенс-мутацією в кодоні 178 гена пріонного білка (*PRNP*), розташованого на хромосомі 20 (Lugaresi E. et al., 1986). Крім того, вказано що метіонін знаходиться в кодоні 129 того ж гена на мутованому алелі (Medori R. et al., 1992). За наявності гена мутації *D178N* з метіоніном на кодоні 129 розвивається *FFI*, однак якщо ген мутації *D178N* на кодоні 129 поєднаний з валіном розвивається сімейна хвороба Крейцфельда-Якоба (Goldfarb L.G. et al., 1992). Фактично фатальне родинне безсоння пов'язане із заміною аспарагінової кислоти на аспарагін в кодоні 178 гена пріонного білка (Takeuchi A. et al., 2019). Спорадичні випадки (*sporadic fatal insomnia, sFI*) без мутацій у цих генах, що проявляються з усіма характерними симптомами, клінічними та патолого-анатомічними змінами вкрай рідкісні (Montagna P. et al., 2003). Тип успадкування хвороби аутосомно-домінантний, цим і пояснюється ураження людей обох статей. У разі наявності патологічного гена, людина обов'язково захворіє, проте ступінь прояву хвороби сильно варіює. Дистрофічні зміни відбуваються переважно у таламічній ділянці, тому й реєструють таку значну кількість симптомів і проявів. За цього захворювання виявляють формування амілоїдних бляшок.

Фізіологічно таламус це комунікатор зв'язків між корою півкуль і тілом людини, відповідно сигнали пропускаються як в напрямку кори або частини тіла. Під час сну ефективність проведення імпульсів через таламус значно знижується. За фатального родинного безсоння виникає порушення цих функцій, крім того, порушуються інші циркадні ритми, що мають вплив на кров'яний тиск, частоту серцевих поштовхів, температуру тіла і гормональні такти. Порушується напрацювання сліз, знижується больовий поріг, проявляється рефлекторна активність, виникають висипи на шкірі й деменція. Внаслідок порушення сну можуть виникати галюцинації, кінцево – кома (Brown P., Gajdusek D.C., 1991).

Фатальна сімейна інсомнія (*FFI*) – наслідок аутосомно-домінантної мутації в *PrP* гені. Середній вік початку захворювання становить близько 40 років (вік захворілих варіює від 20 до 70 років). Тривалість хвороби від появи перших клінічних ознак становить 6–73 міс. Ранні симптоми *FFI* включають дедалі більші труднощі із засинанням й підтримкою сну, а також зниження когнітив-

них здібностей, атаксію й психіатричні симптоми. Симпатична гіперактивність (наприклад, гіпертензія, тахікардія, гіпертермія, пітливість) може реєструватись згодом (Lugaresi E. et al., 1986; Montagna P., 1998, 2011).

В разі спорадичного фатального безсоння (*sFI*) генетична мутація *PrP* відсутня. Сімейна *FFI* клінічно й патолого-анатомічно ідентична спорадичній, але пов'язана з мутацією в 178-му кодоні *PRNP*. Середній вік людей за *sFI*, в яких проявляються клінічні ознаки хвороби (маніфестація) дещо вище і тривалість життя таких пацієнтів довша ніж за *FFI*. Ранні симптоми характеризуються зниженням когнітивних функцій і атаксією. Скарги щодо порушення сну здебільшого відсутні, але зміни спостерігають під час ґрунтовного дослідження сну (Imran M., Mahmood S., 2011).

За обох форм захворювання (*FFI* та *sFI*) присутня аномальна ізоформа пріонного білка, яка стійка до протеаз, з відносною масою 19 кДа, ідентифікована як *resPrPTSE* тип 2. Нині зареєстровано близько 70 родин у 198 людей з яких реєстрували *FFI*, зареєстровано 18 неродинних носіїв, а також 25 типових випадків *sFI* (Cracco L. et al., 2018).

**Клінічні ознаки.** У клініці хвороби можна виділити 4 стадії: *перша стадія*, так званого “прогресивного безсоння” (провідна ознака цього захворювання). Ця стадія триває до 4 місяців і закінчується розвитком різних фобій і панічного страху. У *другу стадію* виявляють збудження, тривогу, галюцинації, пітливість (триває до 5 місяців). На *третьій стадії* хвороби реєструють практично повне безсоння, виснажені внаслідок цього люди виглядають старшими за свій вік, іноді проявляється нестриманість і навіть агресія (триває до 3 місяців). На *четвертій стадії* чітко проявляється деменція і людина практично не спить (триває до 6 місяців). Смерть хворих настає внаслідок виснаження або пневмонії.

Перебіг захворювання особливо стрімкий (менше ніж 11 місяців) у пацієнтів, які експресують метіонін в кодоні 129, як у мутованих, так і в немutowаних алелях, тоді як у пацієнтів, які експресують валін у позиції 129 немutowаного алеля тривалість життя від початку клінічних ознак у 2–3 рази більша. На початку захворювання хворі мовчазні та здаються байдужими до свого оточення та навіть своєї долі (апатія). За нейропсихологічних обстежень звертають увагу на раннє поступальне порушення уваги і пильності, тоді як інтелектуальна функція залишається істотно неушкодженою аж до пізніх стадій захворювання (Gallassi R. et al., 1996).



Одною з перших з перших ознак захворювання є нездатність дрімати вдень і засинати вночі, причому спостерігаються часті пробудження, навіть якщо людина засинає (Lugaresi E. et al., 1986). Найбільш ранні стадії захворювання характеризуються появою галюцинаторної поведінки, під час якої хворі втрачають контакт з навколишнім середовищем й проявляється це автоматично добре організованими руховими жестами, що імітують повсякденну діяльність як-от одягання, розчісування волосся, миття або маніпуляції з уявними об'єктами (Guaraldi P. et al., 2011).

У міру прогресування захворювання спостерігаються соматомоторні прояви які проявляються у вигляді нестійкої ходи (атаксії-абазії), дизартрії і дисфагії. Виникає також спонтанна міоклонія й незмінно присутні ривки (Lugaresi E. et al., 1986). Пацієнти поступово втрачають масу тіла і помирають від раптової серцево-дихальної недостатності або секундарних інфекцій. Детальні полісомнографічні дослідження за *FFI* показують ранню втрату сонних веретен і комплексів К протягом 24 годин (Tinuper P. et al., 1989; Sforza E. et al., 1995). Втрата сонних веретен і дельта-активності настільки значні, що ці ЕЕГ-активності не можуть бути зняті навіть внутрішньовенним введенням барбітуратів або бензодіазепинів (Tinuper P. et al., 1989).

В клінічній картині виявляють інсомнію, вегетативні й рухові порушення, зміну циркадних ритмів секреції гормонів. Для *PrP<sup>Sc</sup>* за спорадичної форми *FFI* характерний 2-й тип. Під час полісомнографічних досліджень відмічається відсутність фізіологічного паттерна сну, зникає його циклічна структура. Часто спостерігається симпатична гіперактивність у вигляді високого рівня адреналіну й норадреналіну в плазмі крові, відмічається підвищення температури тіла й артеріального тиску, в цьому разі зменшуються їх циркадні коливання; останнє спостерігається й відносно вмісту гормонів гіпоталамо-гіпофізарної системи (Zuev V.A. et al., 1999).

Загалом, клінічні прояви за *FFI* дослідники поділяють на три категорії: (1) розлади сну; (2) автономні симптоми; (3) класичні симптоми пріонної хвороби.

Порушення сну, як правило, є раннім симптомом, особливо у 129 ММ пацієнтів, і часто такі порушення характеризуються поступальними скороченнями часу сну й якості сну за відносного збереження стадій останнього (Guaraldi P. et al., 2011; Sikorska B., Liberski P.P., 2012; Toribio-Díaz E. et al., 2020).

Важке безсоння пов'язане з моторною гіперактивацією, і симпатичною активацією, що призводить до епізодичного сну, сняться

щоденні справи, які характеризуються стереотипними рухами, які можна згадати після пробудження. Ці епізоди, визначають як агрипнію, збудження з оніричним ступором, які тривалі й майже безперервні порівняно з іншими розладами поведінки швидкого сну, які зазвичай є коротшими та епізодичними. Вегетативні симптоми є класичною ознакою *FFI* й включають артеріальну гіпертензію, тахікардію, гіпергідроз, гіперпірексію, імпотенцію, слъзотечу та слиновиділення (Gambetti P. et al., 2003; Sikorska B., Liberski P.P., 2012). Психічні симптоми виявляють у 87% пацієнтів з *FFI*, а також можуть бути наслідком цієї вегетативної дисфункції зі стійким підвищенням рівнів катехоламінів і кортизолу в плазмі крові (Portaluppi F. et al., 1994). Повідомлялося про галюцинації у більш ніж половини пацієнтів, які часто асоціюються зі зміною особистості, депресією, тривожністю, агресивністю, розгальмованістю і млявістю (Krasnianski A. et al., 2014).

Пацієнти *FFI* також не відчують або зовсім не відчують седативного ефекту та дії катехоламінів, гіперреактивність симпатичної системи проявляється навіть тоді, коли їм дають клонідин (Cortelli P. et al., 1991). Пацієнти, ймовірно, є виснаженими з огляду на підвищену рухову активність (на 80%), а цілодобові витрати енергії збільшуються на 60% (Plazzi G. et al., 1997). Класичні симптоми *CJD* також спостерігаються під час *FFI*, хоча зазвичай вони виникають пізніше з розвитком захворювання (Sikorska B., Liberski P.P., 2012). Когнітивні порушення у пацієнтів з *FFI* відрізняються від класичної деменції, яку часто спостерігають за інших пріонних захворювань (зміна рівня уваги та пильності). Вони включають ранне порушення уваги, пам'яті, порушення тимчасового порядку подій та поступальний сноподібний стан (Gallassi R. et al., 1996), ознаки, які зазвичай не спостерігаються за інших кортикальних або підкоркових деменцій. Пірамідні симптоми можуть включати жваві сухожилльні рефлекси та симптом Бабінського (Gambetti P. et al., 2003). Зазвичай з'являються порушення ходи приблизно через 5 місяців від початку захворювання і може виникнути дизартрія (Sikorska B., Liberski P.P., 2012; Cortelli P. et al., 2014). Як за *CJD*, так і за *FFI* на пізніх стадіях захворювання виникають візуальні симптоми й міоклонус (Krasnianski A. et al., 2014). Krasnianski A. et al. (2014) розробили алгоритм діагностики *FFI*. Пацієнти з підозрою на *FFI* повинні мати органічні порушення сну, які проявляються клінічно. Ці клінічні ознаки також повинні характеризуватися принаймні двома симптомами (ознаками), схожими на *CJD*, включаючи психіатричні симптоми (наприклад, зорові галюцинації, зміну особистості, депресію,

тривогу, агресивність, розгальмованість і млявість, атаксія, зміни зору, міоклонус і погіршення когнітивних функцій). Крім того, підозрювані пацієнти повинні продемонструвати принаймні одну “відносно специфічну для захворювання ознаку”, наприклад втрату маси тіла щонайменше на 10 кг за 6 місяців, вегетативні симптоми (наприклад, гіпергідроз, гіпертонія, тахікардія, запори, гіпертермія) і хрипкий голос (Cracco L. et al., 2018)

Захворювання проявляється в осіб середнього й похилого віку тяжким безсонням, вегетативними розладами, пов’язаними з симпатичною гіперактивністю (артеріальна гіпертензія, гіпертермія, гіпергідроз, тахікардія), своєрідними когнітивними порушеннями. Деменція, як правило, відсутня, але мають місце порушення уваги й пам’яті. В період неспання у хворих виникають епізоди сплутаності свідомості й складні зорові галюцинації, що становлять собою своєрідні сні наяву. Під час лабораторних досліджень виявляють ендокринну дисфункцію у вигляді порушення добового ритму секреції мелатоніну, пролактину й гормону росту, зниження секреції АКТГ, підвищення секреції кортизолу (Lugaresi A. et al., 1987; Portaluppi F. et al., 1994).

**Патолого-анатомічні зміни.** Патоморфологічно за фатального родинного безсоння типового фенотипу визначається вибіркове ураження передньовентрального і дорсального медіального ядер таламуса (зменшення кількості нейронів і астрогліоз). В деяких випадках виявляють атрофію мозочка й нижніх олив. Губчасті зміни відсутні. Однак *FFI* нетипового фенотипу характеризуються переважним ураженням кори головного мозку, й характеризується губчастою енцефалопатією, а не дегенерацією таламуса й олив (McLean C.A. et al., 1997; Saitoh Y. et al., 2010).

Під час розтину й гістологічних досліджень не виявляють ознак запалення в таламусі. Виявляють загибель нейронів, астрогліоз, нечасто – виявляються спонгіоз та амілоїдні білкові депозити. В асоціативних і моторних ядрах таламуса уражається 90% нейронів, в лімбіко-паралімбічних, інтраламінарних і ретикулярних ядрах – 60%. Спостерігається атрофія переднього й медіадорсального ядер таламуса, олив, різний ступінь гліозу церебральної й мозочкової кори, відсутність бляшок, нерізко виражені спонгіформні зміни (Llorens F. et al., 2017; Notari S. et al., 2018; Cracco L. et al., 2018).

**Діагностика.** Клінічна діагностика *FFI* може бути складною за відсутності в сімейному анамнезі генетичної *CJD*. Біохімічні аналізи виявляють підвищену метаболічну активність і симпатичну

гіперактивність (Schenkein, J., Montagna, P., 2006; Lugaresi E. et al., 1998). Плазматичний кортизол може мати підвищені рівні, крім того, гормон росту і мелатонін втрачають свою нормальну кореляцію з циркадними ритмами (Montagna P., 2011). Припускається також зниження секреції мелатоніну, що також може сприяти порушенням сну під час *FFI* (Portaluppi F. et al., 1994). Електроенцефалографія (ЕЕГ) може бути в нормі на ранніх клінічних стадіях захворювання, базальна активність сповільнюється, коли хвороба прогресує до деменції (Lugaresi E. et al., 1986; Ferrillo F. et al., 2001; Krasnianski A. et al., 2016). Як зазначалося вище, полісомнографічний запис є корисним для виявлення порушення сну навіть на ранніх стадіях захворювання. Проте в сучасній клінічній практиці проводиться полісомнографія на пізніх стадіях захворювання. У цей час фази сну дезорганізовані й пов'язані з аномальною періодичністю і неперіодичними рухами. Згодом загальний час сну скорочується, а фізіологічні ритми сну зникають зі зниженням у веретенах сну та *K*-комплексах. Архітектура нічного сну порушується численними пробудженнями, час *REM*-фаз (*rapid eye movement*; фаза сну, яка характеризується підвищеною активністю головного мозку) зменшується та змінюється через появу багатьох афазичних видів діяльності, втрату м'язової атонії; часто зустрічається апное центрального типу (Sforza E. et al., 1995; Montagna P. et al., 1998; Zarranz J.J. et al., 2005; Krasnianski A. et al., 2008). Не так давно було запропоновано алгоритм ідентифікації (Krasnianski A. et al., 2014). Алгоритм дозволяє ідентифікувати близько 81% пацієнтів, і в його основі є поєднання виявлення органічних порушень сну, вегетативних та осередкових неврологічних ознак та симптомів. Зміни МРТ, якщо такі є, обмежуються таламусом (Vitali P. et al., 2011). Таламус є основним органом-мішенню за *FFI*, і його також використовують як біомаркер для пресимптоматичної діагностики (Tabernero C. et al., 2000; Cortelli P. et al., 2006; Naik S. et al., 2008).

Слід розглядати захворюваність на фатальну інсомнію як швидкі поступальні когнітивні порушення, що супроводжуються змінами поведінки або змінами настрою, атаксією, порушеннями сну. За підозри *FFI* або *sFI* необхідно провести дослідження під час сну методом полісомнографії. Генетичне тестування може підтвердити діагноз сімейної форми. МРТ і дослідження СМР в цій ситуації можуть бути неефективними. Використання полісомнографії й позитронно-емісійної томографії (ПЕТ)(показує гіпометаболізм таламуса) допомагає підтвердити діагноз.

В разі імунохімічних досліджень виявляється патологічна ізоформа пріонного білка, а під час молекулярно-генетичних досліджень мутація в кодоні 178 *PRNP* (Provini F., 2013).

Імуногістохімія з метою виявлення *PrP<sup>res</sup>* стійкого до протеїнази К. Виявляють мізерну кількість *PrP<sup>res</sup>* в таламусі й нижній оливі, та незначну кількість останнього в уражених коркові зони.

Гелевий електрофорез і вестерн-блотинг загальних проб гомогенатів мозку розкриває специфічну закономірність, що характеризується наявністю слабких смуг неглікозильованих *PrP<sup>res</sup>* з постійною рухливістю й м.м. 19 кДа (*PrP* тип 2), і сильні моно-глікозильовані й ди-глікозильовані *PrP<sup>res</sup>*-імунореактивні смуги, що вказують на наявність *PrP<sup>res</sup>* під час *FFI*. За цього захворювання смуги є сильно глікозильованими порівняно з іншими пріонними захворюваннями. Глікозильовані смуги зникають і виникає збільшення інтенсивності неглікозильованої смуги після перетравлення *PNG*-азою (Gambetti P. et al., 1995; Parchi P. et al., 1995, 1998; Capellari S. et al., 2011) *PrP<sup>res</sup>* який виявляють за *FFI*, має нижчу м.м., ніж за інших пріонних захворювань людини (Schmitz M. et al., 2017). В одному з досліджень було проаналізовано спектр *PrP*-форм, що демонструють зниження загальної мРНК і білка *PrP* в ентोरинальній корі й таламусі за *FFI*. Крім того, в мозковій тканині за *FFI* виявляють олігомерні, нерозчинні, амілоїдні позитивні та конформаційно аномальні форми *PrP* (Llorens F. et al., 2016).

За *FFI PrP<sup>res</sup>* також виявляється в ентोरинальній корі, таламусі й мозочку за допомогою методу індукованої вібрацією конверсії (*real time quaking-induced conversion; RT-QuIC*). В ентोरинальній корі рівні *PrP<sup>res</sup>* демонструють позитивну кореляцію із сигналом *RT-QuIC*. Проте позитивний *RT-QuIC* сигнал виявляється з мозковими тканинами за *FFI* навіть без виявлення *PrP<sup>res</sup>* (Llorens F. et al., 2016).

**Диференційна діагностика.** Отримання сімейного анамнезу та зосередження на симптомах сну споріднених членів сім'ї є корисними після ідентифікації гена *PrP D178N-129M* й може гарантувати діагноз на ранній стадії

захворювання. З клінічної точки зору, наявність синдрому збудження-безсоння може нагадувати *марення трепен* і *фібрилярну хорею Морвана* (Montagna P. et al., 2003). Вегетативна дисфункція є достатньо серйозною й може спричинювати такі стани як задній оборотний синдром енцефалопатії, який може маскувати основне захворювання (Froböse T. et al., 2014). Крім того, інші генетичні пріонні захворювання за клінічними ознаками іноді можуть нагадувати

*FFI* (Appleby B.S. et al., 2010). Як і будь-який швидко поступальний нейродегенеративний стан, оборотні причини, такі як *N*-метил-*даспартат* слід розглядати як рецепторний енцефаліт (Marques I.B. et al., 2014). Яскраві симптоми порушення свідомості та зорові галюцинації нагадують *деменцію з тільцями Леві*. *FFI* також може бути спочатку неправильно діагностоване як психічний розлад (наприклад, *посттравматичний стресовий розлад* або *первинний психоз*) через яскраво виражені ранні психіатричні симптоми.

Спорадичне фатальне безсоння (*sFI*) має багато ідентичних клінічних і гістопатологічних ознак з *FFI*, до такого ступеня, що це захворювання можна визначити як фенокопію *FFI*, отже, є спорадичною формою. Однак клінічний і гістопатологічний фенотип *sFI* є більш мінливим, ніж *FFI* варіант, пов'язаний зі 129 гомозиготним генотипом. Специфічна мутація *FFI D178N*, є більш консервативною щодо спонтанного перетворення в пріоноподібну конформацію мутованого *PrP* порівняно з імовірним ідіопатичним перетворенням та подальшим процесом відбору дикого типу *PrP* (Collinge J., Clarke A.R., 2007; Collinge J., 2010; Li J. et al., 2010; Imberdis T., Harris D.A., 2016). Хоча фенотипна схожість *sFI* з *FFI* переважає в цьому відношенні схожість з будь-яким із підтипів *sCJD*, що доведено експериментальними дослідженнями (Mastrianni J.A. et al., 1999; Krasnianski A. et al., 2014), саме тому *sFI* часто називають таламічною формою *sCJDM2* (Moda F. et al., 2012; Parchi P., Saverioni D., 2012; Hayashi Y. et al., 2015; Iwasaki Y., 2017).

Диференційна діагностика *sFI*. За лікувальним ефектом це захворювання можна диференціювати від *автоімунного енцефаліту*. Диференціюють *sFI* від *паранеопластичного синдрому* (Mehta L.R. et al., 2008; Marques I.B. et al., 2014). Нетипові рухові розлади, такі як поступальні *над'ядерні паралічі й спинномозочкова дегенерація* також повинні виключатись, як і інші дегенеративні *деменції* на кшталт *лобно-скроневої часточкової дегенерації* та *хвороби Альцгеймера* (Hamaguchi T. et al., 2005; Hirose K. et al., 2006; Hayashi Y. et al., 2016).

**Лікування.** В разі виникнення пріонних захворювань людини нині ефективного лікування відсутнє. Навіть симптоматичне лікування *FFI* неефективне. Наприклад, лікування безсоння за *FFI* неефективне навіть під час застосування заспокійливих та бензодіазепінів (Julien J. et al., 1998; Will R.G. et al., 1998). В спеціальній літературі є повідомлення про покращення сну за *FFI* після застосування мелатонергічних препаратів (антидепресант агомелатин) (Frobose T. et al., 2012).

## ХВОРОБА КРЕЙЦФЕЛЬДА-ЯКОБА

Хвороба Крейцфельда-Якоба (абр. назви: БКЯ; *CJD*) – це швидко поступальна фатальна пріонна хвороба, нейродегенеративного типу, яка характеризується поступальними психічними й розумовими порушеннями, які призводять до недоумства; у хворої людини спостерігаються довільні скорочення м'язів (міоклонії), хистка хода.

На ранніх стадіях хвороби у людей часто реєструють порушення пам'яті, зміну поведінки, відсутність координації рухів і порушення зору. Прогресування хвороби характеризується погіршенням розумових здібностей, сліпотою, слабкістю кінцівок, комою. Під час цього захворювання нормальний білок, який називають клітинним пріоновим білком ( $PrP^C$ ), змінює форму (неправильно скручується) й стає патогенним пріоном. Пріони повільно накопичуються в головному мозку й переважно спричинюють появу мікроскопічних пухирців в клітинах мозку. Внаслідок цього клітини головного мозку поступово гинуть. Після порушень функції або смерті значної кількості клітин головного мозку у хворої людини розвиваються типові симптоми хвороби с наступною смертю (Nemani S.K. et al., 2020; Notari S. et al., 2018).

**Історична довідка.** Німецькі невропатологи Hans-Gerhard Creutzfeldt (1885–1964) і Alfons Maria Jakob (1884–1931) описали трансмісивну губчасту енцефалопатію, згодом названу хворобою Крейцфельда-Якоба. Нині виділяють декілька її форм, які відрізняються за походженням: *класичну* (виникає спонтанно, 85% усіх випадків БКЯ), *спадкову* (виникають мутації в гені *PRNP* людського пріонного білка, 10–15% випадків; наприклад, кожна десята людина хвора на це захворювання, страждає на сімейну форму хвороби) і *новий варіант* (вже відомий “коров'ячий сказ”, яким люди заражались під час споживання пріоновмісної яловичини). Раніше реєструвалась *ятрогенна CJD (iCJD)*, коли патогенних пріонів розповсюджували під час медичних маніпуляцій або у складі препаратів із тканин і біологічних рідин тварин і людей (здоровим людям вводили гонадотропні гормони, отримані з гіпофіза людей, інфікованих *CJD*). Прикладом ятрогенної форми цієї інфекції є зараження здорової людини під час трансплантації їй твердої мозгової оболонки від інфікованої людини (донора).

В 1995 році від губчастої енцефалопатії почали гинути люди. Це захворювання назвали новим варіантом хвороби Крейцфельда-Якоба. Хоча БКЯ була відома лікарям давно, й реєструвалась нечасто

(1 випадок на 1 млн жителів), новий варіант виявився більш агресивним – було доведено, що від нього за п'ять наступних років лише в Великобританії померло 86 людей. Захворюваність нвБКЯ виявилась більш значною в Великобританії, Словачії, Ізраїлі й Чилі. Було показано, що в Ізраїлі й Словачії захворюваність нвБКЯ в 60–100 разів вище, ніж середня у світовій популяції, що пов'язували з високою частотою мутації у 200 кодоні гена *Prnp*. Англійські вчені зазначали, що зростання захворюваності може бути схожим із кількісними показниками зростання захворюваності на СНІД. Оскільки інкубаційний період нового варіанта БКЯ більше ніж 10 років, а пік захворюваності корів припав на 1992 рік, відповідно, серед людей масову смерть від цього захворювання епідеміологи очікували у 2009 році, а сама епідемія може тривати до 2030 року. На відміну від класичної *CJD*, варіантна *CJD*-форма в Великобританії реєструвалась переважно у молодих людей, середній вік смерті в яких склав 28 років (люди були набагато молодшими від тих, які уражувались класичною формою *CJD*). Середня тривалість інфекції становила 14,1 місяця для *vCJD*, що є набагато більшим, ніж 4,5 місяці перебігу хвороби до настання смерті, пов'язаної з класичною *CJD*.

Таким чином, випадки нвБКЯ (вБКЯ, nvБКЯ, vБКЯ, nvCJD, vCJD) зареєстровані у людей, були наслідком споживання м'ясних продуктів або застосування лікарських препаратів із тканин тварин, контамінованих пріонами-збудниками губчастої енцефалопатії ВРХ. Людина також піддається небезпеці зараження в разі використання тканин і рідин від хворих на цей варіант людей. Небезпечні різні імплантації тканин в ділянку, близьку до мозку, в разі недостатнього знезараження хірургічних інструментів. Введення інфікованих тканин в мозок призводить до короткотривалого інкубаційного періоду – від 15 до 20 міс. Після введення зараженого матеріалу в м'язи інкубаційний період може становити 5–30 років. В разі застосування заражених пріонами хірургічних інструментів або застосування контамінованих збудником внутрішньомозкових електроенцефалографічних електродів середня тривалість інкубаційного періоду БКЯ становила 18–20 міс. В разі імплантації тканин (наприклад, роги очей, твердої мозкової оболонки) в ділянки, близькі до мозку, середній інкубаційний період становив від 17 міс до 5,5 років. Після здійснення ін'єкцій в м'язи препаратів гіпофізу (наприклад, гонадотропіну, гормону росту тощо), препаратів мозку (наприклад, церебролізат), крові великої рогатої худоби (наприклад, деякі гемостатики, які містять бовісний тромбін і аprotинін; реагенти культивування клітин, включно з фетальною



сироваткою від ВРХ, бовісний інсулін, бовісний сироватковий альбумін; актовегін, кортексин) або дериватів кісток існує гіпотетичний ризик розвитку БКЯ, в цьому разі інкубаційний період може сягати до 12,5 років. Вважається, що інфіковані тканини нервової системи більш небезпечні, ніж кров і її препарати. Ще в 1997 році було достеменно доведено, що збудник БКЯ присутній в крові і її препаратах. Було виявлено, що кріопреципітатом, а також фракціями Кона I, II і III змогли інфікувати пріоном БКЯ здорову мишу. Кріопреципітат (сировина для VIII фактора) містив найбільш високий рівень збудника БКЯ серед фракцій плазми. Червоні й білі кров'яні клітини, мали найбільш високий рівень збудника серед компонентів крові, в 10–100 разів вище, ніж в плазмі й інших фракціях. У одного з пацієнтів БКЯ розвинулась після пересадження печінки, кілька людей захворіли після переливання крові, в однієї людини БКЯ була виявлена після отримання ними альбуміну, виготовленого із порції плазми, яка містила кров донора з БКЯ. Кожна партія концентрату або гідролізату крові людей і тварин (великої рогатої худоби) або тканин мозку тварин (великої рогатої худоби) виготовляється із крові 20–60 тис. донорів. Хоча БКЯ реєструється нечасто, фахівці допускають що із 60 тис. один донор може бути зараженим, й про це навіть можна не здогадуватись з причин тривалого інкубаційного періоду. В цьому разі, якщо таких пацієнтів лікують препаратами з крові, вони піддаються небезпеці (Brown P., Gajdusek D.C., 1991).

З появою молекулярної характеристики пріонних захворювань людини, була визначена характеристика підтипів спорадичної (*sCJD*) та набутої *CJD*. Виявилось, що два генетичні варіанти *PrP*, які кодують або метіонін (*M*), або валін (*V*) за кодоном 129 не лише визначають сприйнятливість до спорадичного та набутого *CJD*, але також можуть мати визначені патологічні зміни (Doh-ura K. et al., 1991; Miyazono M. et al., 1992; de Silva R. et al., 1994). Згодом було встановлено, що резистентний до протеїнази *K* (*PK*) *PrP* у людей можна виявити у двох різних формах (*PrP<sup>Sc</sup>* типу 1 і 2). Останні відрізнялись за двома переважними місцями перетравлення *PK* на амінокислотах 96 і 85, й ці відмінності проявляються як в клінічній, так і в патолого-анатомічній характеристиці захворювання (Parchi P. et al., 1996). Такі дослідження призвели до визнання шести типів спорадичних *CJD*, характеристика яких ґрунтувалася на їхніх молекулярних характеристиках, тобто за генотипом в кодоні 129 (*MM*, *MV* або *VV*) і *PrP<sup>Sc</sup>* типами 1 або 2 з клінічними та патолого-анатомічними змінами (Parchi P. et al., 1999, 2011). (1) Тип *MM/MV1*

у чистому вигляді виявляють у 40% усіх випадків *sCJD*, ураження характеризуються формуванням дрібних вакуолей, синаптичного *PrP<sup>Sc</sup>* відкладання, й клінічно характеризується швидким зниженням когнітивних функцій, типовим періодичним гострохвильовим комплексом (*PSWC*). (2) Тип *VV2* (15% від усіх випадків *sCJD*) характеризується бляшкоподібними відкладеннями та периневральним забарвленням останніх в корі головного мозку, а також бляшкоподібними відкладеннями в корі мозочка і білій речовині. Клінічно атаксія проявляється на ранніх стадіях цієї форми захворювання. (3) Тип *MV2K* виявляють у 8% усіх пацієнтів з *sCJD*. За цієї форми виявляють бляшки Куру під час гістологічного дослідження. Характерними клінічними ознаками є деменція й атаксія. (4) Тип *MM2C* нечасто реєструється в чистому вигляді (1% від усіх випадків *sCJD*). Особливою характеристикою цієї форми є доволі розповсюджені великі вакуолі в корі головного мозку й характеризуються периваскулярним і великовогнищевим пофарбуванням *PrP<sup>Sc</sup>*. (5) Тип *MM2T* також дуже рідкісний (близько 1%), і його неможливо відрізнити від *FFI*, який спричинений пріоном з мутацією *D178N* у поєднанні зі 129 M. Клінічно безсоння є помітним, а патологія проявляється в атрофії таламуса та нижньої оливи, лише з незначними змінами в інших ділянках мозку. (6) Тип *VV1* також доволі рідкісний (1%) й уражує молодих пацієнтів (середній вік 39 років). Патологія характеризується серйозними губчастими змінами в корково-смугастих ділянках, проте їх слабо видно за точкового пофарбування *PrP<sup>Sc</sup>* імуногістохімічним методом (*IHC*).

Крім перерахованих вище шести чистих фенотипів, стало очевидним, що до 30% випадків *sCJD* можуть бути “змішаними” із супутньою появою типів *PrP<sup>Sc</sup>* та паралельними патологічними фенотипами (Parchi P. et al., 2009; Cali I. et al., 2009). Тип *MM/MV1 p 2C* виявився найпоширенішим змішаним типом (43% усіх випадків *MM*), а його патологія представлена великими злитими вакуолями в деяких ділянках мозку й незначними вакуолярними змінами, типовими для *MM/MV1*. Тип *VV2 p 1* розпізнається лише під час досліджень у вестерн-блоті, водночас гістологічні зміни подібні до чистого типу *VV2*. Навпаки, типи *MV 2K p 2C* і *MM2T p 2C* можна діагностувати лише за гістологічними показниками (обидва мають *PrP<sup>Sc</sup>* шаблон типу 2 у вестерн-блотах)(Tranulis M.A. et al., 2011).

**Епідеміологічні відомості.** Один із варіантів цього захворювання виникає внаслідок вживання в їжу зараженої яловичини. Також хвороба Крейцфельда-Якоба може початись без будь-якої причини

або може бути успадкована з патологічним геном. В усіх випадках БКЯ може виникати спонтанно (спорадична БКЯ); може передаватися спадково (сімейна БКЯ); може бути набутою.

Здебільшого реєструють *спорадичну* БКЯ (результат спонтанної соматичної мутації). В усьому світі цією хворобою може захворіти 1 людина на 1 млн населення, в США щорічно реєструється близько 300 випадків. Ця форма захворювання може становити до 90 % випадків. Як правило, хвороба починається у людей старших 40 років, переважно у віці 65 років, близько 90% людей гинуть протягом 1 року. Причини виникнення цієї форми захворювання невідомі. *sCJD* було виявлене в Європі, Північній Америці, Центральній Америці, Південній Америці, Африці, Азії та Австралії (Watson N. et al., 2021).

*Сімейна БКЯ* розвивається у людей, у яких в гені білка *PrP<sup>C</sup>* є мутація, яка сприяє перетворенню нормального білка *PrP<sup>C</sup>* у хвороботворний пріон (*PrP<sup>Sc</sup>*). Ця форма захворювання може становити 5–10% випадків. Сімейна форма захворювання була описана в 1924 р. Найбільшу кількість випадків ураження в сім'ях реєстрували в Чилі, Словаччині, Ізраїлі. Сімейна БКЯ часто передається спадково, починається в більш ранньому віці й триває довше, ніж спорадична БКЯ. Сімейна БКЯ успадковується за аутосомно-домінантним типом. Останнє означає, що мутації не зчеплені зі статевими хромосомами (X або Y) й для розвитку хвороби необхідний лише один ген цього захворювання від будь-кого з батьків. Загалом нині нараховують близько 50 мутацій білка *PrP<sup>C</sup>*, й кожній з них відповідає своє пріонне захворювання. Найбільш відомі з них: сімейна хвороба Крейцфельда-Якоба; фатальне сімейне безсоння; хвороба Герстмана-Штрауслера-Шейнкера; “пріонна хвороба, пов'язана з діареєю й автономною невропатією” тощо.

*Ятрогенна (інфекційна, набута БКЯ)* форма може виникати у людей, яким здійснювали певні медичні процедури, коли були використані ненавмисне забруднені матеріали або інструменти, коли робили ін'єкцію зараженого пріонами препарату (гормон росту та гонадотропін), були трансплантовані органи або тканини заражені пріонами, проводили переливання крові контамінованої пріонами (так звана ятрогенна БКЯ). На частку набутої БКЯ припадає менше ніж 1% усіх випадків цього захворювання. Донині не реєстрували випадків зараження БКЯ після побутового або навіть статевого контакту з хворими (Brown P. et al., 1992; Will R.G., 2002; Thomas J.G. et al., 2013). Ятрогенна форма хвороби вперше була зареєстрована в 1974 р. у пацієнта-реципієнта рогівки від донора, який помер від

цього захворювання (Duffy P. et al., 1974). В 1977 р. С. Прузінер повідомив про внутрішньомозкове зараження збудником цього захворювання після застосування електродів. У 1985 р. описані випадки цього захворювання після лікування гормоном росту, який було виготовлено з тканин від хворих людей. В 1987 р. підтверджено випадок цього захворювання у реципієнта після пересадки твердої оболонки головного мозку від хворого донора (Gough K.C., Maddison V.C., 2010; Kotsar O.V., 2018). Статистика реєстрації *iCJD* у світі показує, що захворілих після пересадки рогівки – 2, через контаміновані хірургічні інструменти – 4, після застосування електроенцефалограми – 2, застосування гонадотропіну – 4, застосування гормону росту – 226, пересадження твердої мозкової оболонки – 228, зареєстровані також випадки захворювань, які розвинулись після переливання крові – 3 (Brown P. et al., 2012).

*Варіант БКЯ (вБКЯ, nv-CJD, v-CJD)* може виникати у людей, які вживали яловичину або продукти з неї, заражені збудником губчастої енцефалопатії ВРХ (“коров’ячий сказ”). Варіантна форма БКЯ здебільшого реєструвалась серед людей у віці близько 30 років або молодших, на відміну від спорадичної БКЯ, яка починається в віці близько 65 років (Will R.G. et al., 1996; Bruce M.E. et al., 1997; Hill A.F. et al., 1997). Станом на березень 2021 року було зафіксовано в усьому світі 232 випадки вБКЯ: Великобританія – 178, Франція – 28, інші країни – 26 (Thomas J.G. et al., 2013; Ascari L.M. et al., 2020; Watson N. et al., 2021). Враховуючи той факт, що протягом багатьох років люди в Великобританії вживали в їжу заражену яловичину, не здогадуючись про це, кількість випадків вБКЯ є все-таки незначною. Розповсюдження хвороби стримувалось масовим забоєм і знищенням стад де було виявлене захворювання, а також зміною режимів приготування яловичини в Великобританії. Повсюдний і жорсткий контроль за хворобою серед ВРХ призвів до помітного зменшення реєстрації нових випадків вБКЯ в Великобританії (з 2011 року було зареєстровано лише два випадки захворювання). Було також діагностовано чотири випадки вБКЯ в США і два випадки в Канаді, однак жоден із цих пацієнтів не заразився в Північній Америці.

Хоча кількість спожитої інфекційної тканини, ймовірно, є критичним фактором в передачі *BSE* людині в формі *vCJD*, генетична схильність людини до гена пріонного білка *PRNP*, ймовірно, відіграє важливу роль в зараженні. Можливо, що для того, щоб пріон *BSE* міг реплікуватися у людини як *vCJD*, необхідна доволі специфічна генетична конституція або генотип. Також можливо, що певні варіанти

цього сприйнятливою генотипу порівняно стійкі до захворювання і хворіють лише після більш тривалих інкубаційних періодів. Brown P. (2001) зазначає, що різниця між захворюваністю *BSE* і *vCJD* може бути пов'язана з обмеженим впливом доволі незначних інфекційних доз, які, за виключенням генетично схильних людей, не можуть подолати комбіновані ефекти видового бар'єра – від великої рогатої худоби до людини, й порівняно неефективний шлях зараження – травний канал на відміну від прямого контакту з центральною нервовою системою. З іншого боку, кінцеві масштаби спалаху вБКЯ невідомі здебільшого тому, що невідомий інкубаційний період цього варіанту захворювання (Brown P., 2000, 2007; Brown P., Farrell M., 2015; Brown P. et al., 2000, 2012).

У Великобританії приблизно 1 людина із 2000 має неправильний пріонний білок, що характерний для вБКЯ, однак без прояву симптомів. Є побоювання стосовно того, що в разі, якщо такі люди здають кров або переносять хірургічні втручання, це може стати причиною зараження інших людей. Запроваджені нові більш жорсткі критерії скринінгу донорів крові, які стосувались конкретно профілактики БКЯ, доволі суттєво знизили ризики передачі вБКЯ інфікованими людьми. За межами Франції й Великобританії ці ризики є мінімальними.

Так, у 2004 р. дослідження розповсюдженості безсимптомних випадків нвБКЯ в Великобританії дозволило діагностувати 3 позитивних результати з 12674 зразків мигдаликів, видалених хірургічним методом і визнаних задовільними для аналізу інфікування *PrP<sup>Sc</sup>*. Генетичні дослідження, проведені у 2 із 3 діагностованих випадків, показали носійство різних поліморфних алельних варіантів гена *PRPN* в кодоні 129, що вказує на те, що значна кількість людей у світі мають генетичну схильність до інфікування нвБКЯ, хоча не завжди демонструють типову клінічну картину захворювання, як це вважалось раніше. Патогенез нвБКЯ суттєво відрізняється від інших форм пріонних захворювань людини (Ryan R. et al., 2011; Peden A. et al., 2011). Так, в разі нвБКЯ білок *PrP<sup>Sc</sup>* легко виявляється в лімфоретикулярних тканинах на відміну від спорадичної (класичної) і сімейної БКЯ, що пояснює більш високий ризик контамінації й передачі нвБКЯ в популяції (Shnajder N.A., 2014).

БКЯ можна заразитися також в разі проведення деяких медичних процедур (*ятрогенна БКЯ*). Наприклад, можна заразитися під час проведення однієї з наступних процедур: – пересадка рогівки або, можливо, інших тканин донора, який хворий на БКЯ; – операція

на головному мозку, під час якої використовуються недостатньо стерилізовані інструменти, що попередньо використані в пацієнтів заражених БКЯ (в разі звичайного миття інструментів з наступною стерилізацією пріони не знищуються); – застосування під час лікування речовин, отриманих із тканин людей хворих на БКЯ; – переливання крові, відібраної від людини хворої на БКЯ.

Ятрогенна БКЯ виникає в разі лікування гормонами, виготовленими з гіпофіза людини. Хвороба, наприклад, розвилась у декількох дітей, яких лікували гормоном росту, який було виготовлено із гіпофізів людей, які загинули від пріонних захворювань. Нині вже ці гормони виробляються методами генної інженерії, тому такий шлях зараження виключається.

Після переливання контамінованої пріонами крові, вБКЯ заразились лише три людини, у яких виникли симптоми цього захворювання. Було зафіксовано також випадок, коли одній людині перелили заражену кров, проте симптоми у цієї людини не розвинулись. В усіх випадках донори були хворі на варіантну форму БКЯ. Останній такий випадок було зареєстровано у 2007 році.

**Клінічні ознаки та перебіг.** Найбільш розповсюджені ранні симптоми БКЯ (втрата пам'яті й сплутаність свідомості) можуть бути подібними до інших форм деменції, наприклад, до хвороби Альцгеймера. У більшості людей з БКЯ ці симптоми з'являються першими, але кінцево розвиваються у всіх хворих. У решти хворих першим симптомом є порушення м'язової координації (атаксія). У хворих на вБКЯ спочатку розвиваються психічні порушення (підвищена тривога і депресія), але не порушення пам'яті. Пізні симптоми є подібними під час обох форм хвороби.

Інкубаційний період у разі ятрогенної форми БКЯ становить 1,5–27 років.

Незалежно від того, чи розвиваються ці симптоми поступово чи з'являються раптово, психічні й розумові порушення безперервно наростають, хворі починають нехтувати особистою гігієною, стають апатичними й дратівливими. Окремі хворі доволі швидко втомлюються й відчувають сонливість, інші не можуть заснути.

Як правило, протягом перших 6 місяців з моменту появи симптомів починаються довільні швидкі скорочення м'язів (міоклонії). Можливий тремор, хворий стає незграбним, порушується координація рухів. Хода стає нестійкою й хисткою (подібна до ходи п'яної людини). Рухи можуть стати уповільненими. Із-за порушення контролю над роботою м'язів хворий може ставати в незвичайну позу,

наприклад, повертати тулуб або кінцівки вперед або в бік. М'язи можуть судомно скорочуватись в разі розтягування. В окремих хворих виникають галюцинації й напади.

Хворого можна легко налякати, його реакції в цьому разі доволі сильно виражені. Наприклад, він може підстрибнути, якщо навіть почує гучний голос. Переляк може спричинити довільні посмикування м'язів. Порушується робота м'язів, відповідальних за дихання й кашель, через це зростає ймовірність запалення легень. Зір може слабнути й ставати нечітким. Як правило, симптоми наростають набагато швидше, ніж під час хвороби Альцгеймера, й у хворої людини розвивається тяжке недоумкуватість (деменція). Приблизно у третині випадків за цього захворювання реєструють епілептичні напади (Brown P., 2000, 2007; Brown P., Farrell M., 2015; Brown P. et al., 2000, 2012).

Хвороба Крейцфельда-Якоба становить близько 85% всіх пріонових енцефалопатій людини, уражує людей будь-якого віку, обох статей, всіх рас. національностей і рас, чоловіків і жінок, дорослих і дітей.

Продромальні симптоми БКЯ не є специфічними й виникають приблизно у 30% хворих. Вони з'являються за декілька тижнів і місяців до виникнення перших ознак деменції. Симптоми характеризуються астеною, порушенням сну й апетиту, уваги, пам'яті й мислення, втратою маси тіла, втратою лібідо, зміною поведінки. Перші ознаки захворювання здебільшого характеризуються зоровими порушеннями, головним болем, запамороченням, парестезіями. У переважної частини хворих поступово розвивається БКЯ. В окремих випадках, як і під час аміотрофічних форм, неврологічні ознаки можуть передувати початку деменції. Як правило, спостерігається поступальний спастичний параліч кінцівок із супутніми екстрапірамідними знаками, тремором, ригідністю й характерними рухами. В інших випадках може спостерігатись атаксія, людина починає значно гірше бачити, з'являється м'язова фібриляція й атрофія верхнього рухового нейрона. Для спорадичної БКЯ характерні: поступальна розсіяна мікроорганічна неврологічна симптоматика (порушення м'язової координації; зміна особистості, порушення пам'яті, судження й мислення; порушення зору; безсоння; депресія; міоклонічні напади; когнітивні порушення). Загибель людини настає приблизно через 8 міс від початку хвороби. Приблизно 40% хворих на спорадичну форму БКЯ мають підгострий перебіг з поступальними когнітивними порушеннями, в 40% випадків реєструються мозкові

порушення, у 20% – їх комбінація. Клінічні ознаки включають розлади поведінки, порушення вищих функцій кори, порушення зору (аж до коркової сліпоти), мозочкову дисфункцію, поєднання пірамідної й екстрапірамідної симптоматики. Під час прогресування хвороби в усіх хворих розвиваються фокальні напади, в тому числі міоклонус повіки, міоклонус губи і/або вторинно-генералізовані міоклонічні напади, які можуть провокуватися фоно- і фотостимуляцією, тактильним подразненням (доторканням), розумові порушення стають серйозними, люди часто сліпнуть, втрачають здатність рухатись і говорити, впадають у кому. В цих людей виникає пневмонія або інфекційні хвороби, які й призводять до смерті (Torres J.M. et al., 2016).

Stoyda N.I., Zavalishin I.A. (2012) виділяють 5 стадій перебігу спорадичної БКЯ: 1. Продромальна стадія (астенія, адинамія, загальна слабкість, запаморочення, головний біль, порушення сну, біль у ногах, зниження апетиту, втрата маси тіла, зміни в поведінці, порушення уваги й пам'яті). 2. Стадія перших симптомів (швидко зростають психічні порушення, зорові й рухові очні порушення, атаксія, дизартрія, скутість в ногах, дрижання рук, галюцинації, порушення сечовиділення). 3. Розвернута стадія (деменція, пірамідно-екстрапірамідні й мозочкові порушення, міоклонус, запаморочення, зорові й рухові очні порушення, вегетативні розлади, атрофія м'язів). 4. Фінальна стадія (деменція, акінетичний мутізм, розлади свідомості, децеребраційна ригідність, міоклонус, супутні соматичні патології, трофічні порушення, порушення дихання центрального типу, які і є причиною загибелі цих пацієнтів). 5. Стадія продовженого життя (відсутність власного дихання – хворий знаходиться на ШВЛ) характеризується апалічним синдромом, вегетативним статусом, гіперкінезами, контрактурою суглобів, втратою м'язової маси, поліпатією. Причина смерті – серцева недостатність протягом найближчих декількох місяців.

Новий варіант БКЯ є епідемічним пріонозом і характерний для країн, де виявлені випадки губчастої енцефалопатії ВРХ. Перші випадки захворювання у людей описані в 1995 році в англійських підлітків, найбільша захворюваність спостерігається у 60–65-річних людей, у яких під час морфологічного дослідження зрізів тканин головного мозку (аутопсійного матеріалу) були виявлені характерні структурні спонгіформні зміни й, так звані, “червоні амілоїдні включення”. Згодом *vCJD* був описаний у Франції, Італії, Ірландії, США, Ізраїлі, Словаччині, Чехії, Нідерландах, Росії тощо. Якщо



хвороба уражувала на початку епідемії людей старших 50-річного віку, то згодом жертвами хвороби стали більш молоді люди, і її розвиток був більш прискореним. В структурі клінічної симптоматики переважають психіатричні розлади й сенсорні порушення, характерні глобальні когнітивні порушення й атаксія. За *vCJD* ранні психіатричні симптоми, включають абстиненцію, занепокоєння і дисфорію, когнітивні порушення, атаксії та рухові розлади (Spencer M.D. et al., 2002; Heath C.A. et al., 2010). Згодом з'являються деменція й міоклонус. Постраждали люди здебільшого стають повністю нерухомими й німими в прикінцевій стадії хвороби. Таламічний біль вражає багатьох людей на ранніх стадіях захворювання (Spencer M.D. et al., 2002). Пульвінарна ознака на MPT є високочутливим маркером *vCJD* у відповідному контексті (Collie D.A. et al., 2003). Виявлення високого рівня білка 14-3-3 в спинномозковій рідині, який є біомаркером з чутливістю 75–90% для *sCJD*, за *vCJD* має чутливість лише 50% (Green A.J. et al., 2001). ЕЕГ у людей з *vCJD* зазвичай не показує характеристик періодичності гострих хвильових комплексів, які спостерігаються за *sCJD* (Tee V.L. et al., 2018). Невропатологія за *vCJD* характеризується наявністю бляшок та наявністю пріона *2B PrP<sup>res</sup>* (Ironsides J.W., 2002; Wadsworth J.D., Collinge J., 2011).

Описано декілька випадків захворювання, які починались з коркової сліпоти (варіант *Heidenhain*). Як і в разі спорадичної БКЯ універсальним і діагностично важливим клінічним критерієм є міоклонус. Однак на відміну від спорадичної БКЯ, за нвБКЯ на перший план виступають виражені поведінкові й глобальні когнітивні порушення на відміну від спорадичної БКЯ, за нвБКЯ на перший план виходять виражені поведінкові й глобальні когнітивні порушення (психіатрична симптоматика), а також сенсорні розлади. Мозочкова симптоматика виявляється в 100% випадків нвБКЯ, в той час, як за спорадичної форми – в 40% спостережень. Переважна кількість випадків нвБКЯ – ятрогенні.

Інший варіант, який називають паненцефалопатичною формою, реєструється переважно в Японії й має відносно тривалий перебіг. В цьому разі симптоми часто прогресують протягом декількох років.

Таким чином, хворобу характеризують швидкі когнітивні порушення, міоклонус, дистонія, акінетико-ригідний синдром, спастичність, гіперрефлексія, атаксія, зорові розлади, на пізніх етапах – акінетичний мутізм.

Більшість хворих на БКЯ гинуть через 4–24 місяці від початку перших клінічних ознак. Приблизно 10–20 % хворих живуть 2 роки

й більше. Тривалість життя хворих з ВБКЯ здебільшого становить приблизно 18 місяців. Часто причиною смерті стає аспіраційна пневмонія, а хворий знаходиться у стані акінетичного мутизму. Інкубаційний період ВБКЯ може становити 10–20 років (Yahno N.N. et al., 1997; Johnson R.T., Gibss C.J.Jr., 1998; Brown P., 2000, 2007; Pokrovskiy V.I. et al., 2007; Peresedova A.V., Zavalishin I.A., 2012; Brown P., Farrell M., 2015; Zinoveva O.E. et al., 2016; Brown P. et al., 2000, 2012; Nemani S.K. et al., 2020; Notari S. et al., 2018; Uttley L. et al., 2020).

**Патоморфологія головного мозку.** У мозку уражених переважно спостерігається дифузна атрофія кори головного мозку з глибоко-подібними змінами, особливо в неокортексі, і поширеною дистрофією нейронів. На розрізі видно вогнища розм'якшення речовини мозку, інколи у вигляді порожнин, заповнених тьмяним сірувато-рожевим кашоподібним вмістом. Також макроскопічно виявляється атрофія і спонгіформні (губчасті) зміни речовини головного мозку (особливо значні в разі спорадичної БКЯ) ступінь яких впливає на тривалість хвороби.

Патоморфологічними маркерами є спонгіформна дегенерація й астрогліоз, зменшення кількості нейронів. Зміни найбільш виражені в корі великого мозку, смугастому тілі, таламусі, мозочку. На основі розподілу патологічних змін виділено 5 підгруп хвороб: – тип Якоба (кортико-стріарно-спінальна форма); – тип Гейденгайна з переважним ураженням потиличної кори; – дифузний тип (тип Штерна і Гарсена) з переважним ураженням базальних ядер і таламуса; – атактичний тип (Броунела-Опенгеймера) з переважним ураженням мозочка; – паненцефалітний тип з ураженням як сірої, так і білої речовини.

Мікроскопічно виявляється зменшення кількості нейронів і реактивна проліферація астроцитів. У відростках нейронів і астроцитів виявляються численні маленькі вакуолі, внаслідок чого з'явився термін “губчастий енцефаліт”. Гістологічно виявляються спонгіформна дегенерація, атрофія й втрата нервових клітин, астроцитарний гліоз, амілоїдні бляшки, які містять пріонний білок, а також відсутність запальних реакцій. Під час БКЯ уражується сіра речовина центральної нервової системи (ЦНС): кора головного мозку, стріатум, таламус, молекулярний шар мозочка й верхні відділи стовбура мозку. В 10% випадків виявляються імунореактивні до пріонових антитіл амілоїдні бляшки (в мозочку й напівкулях головного мозку). За відсутності амілоїдних бляшок, останні імунореактивні до бета-амілоїду.

За нового варіанта БКЯ виявляють амілоїдні бляшки, оточені вакуолями; спонгіформні зміни, які більш помітні в базальних гангліях (хвостатому ядрі, таламусі); виражений таламічний астрогліоз; скопчення пріонового білка, включно з внутрішньоклітинними відкладаннями в церебральній і мозочковій корі, особливо в молекулярному шарі (Brown P., 2000, 2007; Oleksiuk-Nekhames A.H., 2015).

**Діагностика.** Нині не існує єдиного діагностичного тесту на *CJD*. Діагноз може бути підтверджений за допомогою електроенцефалографії, аналізу спинномозкової рідини й магнітно-резонансної томографії.

Лікарі можуть запідозрити хворобу Крейцфельда-Якоба у людей похилого віку за наявністю наступних клінічних ознак: – швидке наростання психічних порушень; – довільні посмикування м'язів; – нестійка й хистка хода. Так само за допомогою детального обстеження потрібно виключити усі інші типи деменції. Лікарі можуть запідозрити вБКЯ у більш молодих хворих з типовими симптомами цього захворювання, які вживали в їжу яловичину в Великобританії або тих країнах, де зафіксовано випадки губчастої енцефалопатії ВРХ, або споживалась яловичина привезена з Великобританії. Сімейну БКЯ лікар може запідозрити, якщо у порівняно молодій людині є родичі, які страждають на БКЯ.

Найбільш надійні результати можна отримати із застосуванням магнітно-резонансної томографії (МРТ). Сканування головного мозку за допомогою МРТ також може виявити характерні патерни його дегенерації, які можуть допомогти діагностувати *CJD*. Цей метод дозволяє виявляти в головному мозку характерні зміни, у тому числі ті, які типові лише для вБКЯ. Під час МРТ можна виявити гіперінтенсивні (в T2-режимі) зони в проекції базальних ядер або таламуса. Під час КТ (комп'ютерної томографії) у частини хворих виявляється атрофія півкуль великого мозку з розширенням коркових борозенок, шлуночків, цистерн, а також мозочка. Загалом комп'ютерна томографія головного мозку може також допомогти виключити можливість того, що симптоми є наслідком інших проблем, таких як інсульт або пухлина головного мозку.

Проводять також спинномозкову пункцію (люмбальну пункцію) для отримання зразка спинномозкової рідини, яку досліджують на наявність пріонів. За допомогою цього аналізу можна виявити мінімальні кількості пріона в спинномозковій рідині і, таким чином БКЯ може бути виявлена з великою ймовірністю, навіть більшою ніж під час застосування інших методів. За допомогою аналогічного аналізу сечі можна діагностувати вБКЯ.

Електроенцефалографія (ЕЕГ) здебільшого виконується з метою виявлення характерної аномальної електричної активності головного мозку, і ці зміни ЕЕГ виявляють у 70 % людей з БКЯ (високоамплітудні трифазні або поліфазні гострі хвилі на фоні загального уповільнення й сплюснення електричної активності). Ці зміни, однак, з'являються лише на пізніх стадіях захворювання й можуть час від часу зникати. Зміни на ЕЕГ спостерігаються в розвернутій стадії хвороби в вигляді дво- або трифазних гострих хвиль з частотою 1–2 на секунду, які здебільшого накладаються на загальний знижений фон активності. В таких хворих в цереброспінальній рідині (ЦСР) виявлений атипичний білок 14.3.3, якому надають діагностичного значення (Hsich G. et al., 1996; Cuadrado-Corrales N. et al., 2006).

Реальний спосіб підтвердити діагноз *CJD* – це біопсія головного мозку або розтин. Під час біопсії головного мозку нейрохірург видаляє невеликий кусочок тканини із мозку пацієнта, щоб останній міг дослідити невропатолог. Ця процедура може бути небезпечною для людини, й під час операції не завжди отримують тканину з ураженої частини мозку. Навіть правильний діагноз на *CJD* не допоможе людині (хвороба не піддається лікуванню), тому біопсія головного мозку не рекомендується. У разі розтину увесь мозок досліджується після смерті. І біопсія головного мозку, і розтин несуть, певні ризики, адже хірург або інші особи, які працюють з тканинами мозку, можуть випадково заразитися під час цієї роботи.

Нині найбільш надійним і вірогідним методом діагностики БКЯ та інших пріонових захворювань є імуноцитохімічний метод виявлення в біоптаті патогенних форм пріонів (*PrP<sup>Sc</sup>*). Інфекційна ізоформа *PrP<sup>Sc</sup>* відкладається в синапсах кори великого мозку й мозочка, а також в амілоїдних бляшках. Відкладання *PrP<sup>Sc</sup>* є найбільш раннім етапом в розвитку БКЯ й визначається ще до розвитку структурних змін в тканині мозку. Однак ця методика (імуноцитохімічне дослідження й імуноблотинг) знаходиться вже за рамками чисто морфологічних методів і вимагає спеціальних реактивів і обладнання.

Вченими *NINDS* розроблений тест на *CJD*, який проводиться зі спинномозковою рідиною людини й дозволяє виявити білковий маркер, який вказує на дегенерацію нейронів. Останній може допомогти діагностувати *CJD* у людей, у яких вже проявляються клінічні симптоми хвороби.

Доволі серйозною складовою методичної сторони морфологічної діагностики (незалежно від того, це біопсія чи аутопсія), є можливість зараження працівників лабораторії досліджуваним матеріалом:

у разі БКЯ небезпеку становлять всі внутрішні органи, біологічні рідини від хворих і особливо тканини головного й спинного мозку, а також очні яблука. Тварин вдається заразити матеріалами з цереброспинальної рідини, тканин легень, печінки, нирок, селезінки й лімфатичних вузлів від хворих людей. Виникнення ятрогенних випадків БКЯ після пересадки твердої мозкової оболонки й рогівки ока свідчить про те, що пріони накопичуються не лише в самому мозку, але і в пов'язаних з ним сполучнотканинних утвореннях. В спеціальній літературі є повідомлення про те, що на певних етапах розвитку інфекції БКЯ пріони можуть міститись у крові хворих. Так само в спеціальній літературі описані випадки зараження нейрохірурга, терапевта, стоматолога, патолого-анатомів, лаборантів. Доведено, що тканини людей, які загинули від пріонових інфекцій залишаються заразними навіть після фіксації їх формаліном. У зв'язку з чим робота з такими матеріалами вимагає обережності й повинна виконуватись спеціально підготовленим персоналом.

Як уже зазначалось, відсутня необхідність досліджувати під мікроскопом тканини головного мозку (біопсія) за життя пацієнта. Однак для підтвердження діагнозу й визначення типу пріонної хвороби важливим є обстеження після смерті (розтин)(WHO, 1998; Geschwind M.D., Wong K., 2014; Manix M. et al., 2015; Notari S. et al., 2018; Asher D.M. et al., 2020; Nemani S.K. et al., 2020; Watson N. et al., 2021).

*Нові діагностичні стратегії в діагностиці CJD.* Здатність діагностувати *CJD* зажиттєво значною мірою покращилася за останні кілька десятиліть завдяки досягненням в області МРТ (Zerr I. et al., 2009) і біомаркерів спинномозкової рідини (Green A., 2019; Cramm M. et al., 2016; Muayqil T. et al., 2012). Критерії діагностики для *sCJD* були переглянуті у 2017 р. До них додатково були включені МРТ з використанням мультифокальної кортикальної стрічки й позитивний результат *RT-QuIC* (National CJD Research & Surveillance Unit, 2017; European Centre for Disease Prevention and Control, 2017). Ці методи, включені в схему діагностичних досліджень, мають чутливість 97% і специфічність 99%. Порівняно з раніше використовуваними критеріями, які мали чутливість 74% і специфічність 99% відповідно, й імовірно, сприяли зростанню показників захворюваності (Hermann P. et al., 2018). Своєчасна та точна діагностика *CJD* протягом життя дає безліч переваг. По-перше, це сприяє профілактиці цього захворювання серед населення, запроваджуються такі заходи як карантинування потенційно заражених (контамінованих пріонами) препаратів

крові та медичних інструментів. По-друге, це дозволяє перейти від неефективних та потенційно шкідливих емпіричних методів лікування, та продовжити й покращити якість життя захворілих людей (McNiven K. et al., 2019). По-третє, більш надійна діагностика дозволяє виключати *CJD* в осіб з імітаційними станами, наприклад аутоімунний енцефаліт, і проводити потенційно рятівне лікування (Mead S., Rudge P., 2017).

**Диференційна діагностика.** Коли лікар має підозру на БКЯ, в першу чергу слід виключити форми деменції, які піддаються лікуванню. Такими є *енцефаліт* (у тому числі *аутоімунний*) або *хронічний менінгіт*. Деякі симптоми *CJD* можуть бути ідентичними з симптомами інших поступальних неврологічних розладів, таких як хвороба Альцгеймера або Хантінгтона. Однак *CJD* спричинює унікальні зміни в тканині мозку, які можна побачити під час розтину. Адже *CJD* має тенденцію спричинювати більш швидке погіршення здібностей людини, ніж хвороба Альцгеймера або більшість інших типів деменції. Початкові прояви БКЯ з нейродегенеративними захворюваннями іншої етіології необхідно диференціювати від *хвороби Альцгеймера* й *Паркінсона*, *фронтотемпоральної деменції*, *нормотензивної гідроцефалії*, *герпесвірусного енцефаліту*, *спадкових метаболічних хвороб*, *деменції за хвороби моторного нейрона*, *комплексу СНІД-деменція*, *розсіяної системної атрофії*, *мультиінфарктної деменції*, *деменції з тільцями Леві*, *деменції за паранеопластичного синдрому*, *сімейної міоклонічної деменції*, *енцефалопатії Хашимото*, *хронічного менінгіту*, *токсичних енцефалопатій (гіпоксична, уремична, печінкова енцефалопатія, інтоксикація літієм)* тощо. Хвороба Альцгеймера може іноді супроводжуватися міоклонусом, але, як правило, відрізняється більш тривалим перебігом і відсутністю рухових і зорових порушень. *Ізольований ангіт ЦНС* часто супроводжується міоклонією, але для нього характерні ступенеподібний розвиток симптоматики, постійні головні болі, запальні зміни під час КТ і МРТ, зміни судин за ангіографії. *Нейросифіліс* і *криптококовий менінгоенцефаліт* можуть проявлятися синдромом міоклонічної деменції, але мають характерну картину спинномозкової рідини.

Stoyda N.I., Zavalishin I.A. (2012) під час проведення диференційної діагностики БКЯ вказують, що потрібно враховувати також неврологічні ускладнення за *системних васкулітів*, *нейросифілісу* й *криптококового менінгоенцефаліту*; також брати до уваги групу захворювань, які проявляються міоклонус-епілепсіями, мнестико-інтелектуальними порушеннями й атаксіями (*мітохондріальна*

енцефаломіопатія з синдромом “розірваних” червоних волокон, сіалідози, хвороба Лафора, хвороба Унверихта-Лундборга, нейрональний цероїдний ліпофусциноз).

**Лікування** не існує, уповільнити прогресування хвороби неможливо, але ліки можуть полегшувати перебіг окремих симптомів. Наприклад, опіати можуть дещо послаблювати біль, протисудомний препарат вальпроат натрію і седативний препарат клоназепам можуть зменшити довільні посмикування м’язів (міоклонус). Седативні засоби або нейролептики іноді допомагають заспокоїти людей, які знаходяться у тривожному стані. На більш пізніх стадіях захворювання часта зміна положення людини може забезпечити їй комфорт й попередити появу пролежнів. Катетер може використовуватися для зливу сечі, якщо людина не може контролювати функцію сечового міхура, а також можуть використовуватись внутрішньовенні введення рідин й штучна годівля.

Хворій людині й членам його сім’ї дуже важливо отримати підтримку. Можуть допомагати центри денного перебування, довгострокова допомога і тимчасова заміна члена сім’ї, який доглядає за хворим. Підтримку й інформацію можна отримати в Організації підтримки хворих БКЯ (*CJD Foundation, USA*).

В разі виявлення БКЯ необхідно скасовувати всі лікарські препарати, які можуть негативно впливати на мнестичні функції й поведінку пацієнта. Значна частина потенційних терапевтичних втручань в разі БКЯ нині є дискусійними. Традиційні противірусні засоби, такі як амантадин, інтерферони, пасивна імунізація й вакцинація людини й тварин, виявились неефективними. Брефелдин А руйнує апарат Гольджі, попереджає синтез  $PrP^{Sc}$  в інфікованій культурі клітин. Блокатори кальцієвих каналів, зокрема *NMDA*-рецепторів, сприяють більш тривалому виживанню інфікованих нейрональних культур. Здебільшого, проводять симптоматичне лікування, яке дозволяє локалізувати міоклонічні напади (антиепілептичні препарати) й екстрапірамідні порушення (препарати проти хвороби Паркінсона, в тому числі агоністи дофамінових рецепторів).

Нині пріонові хвороби вважаються невиліковними, однак підходи до їх лікування активно розробляються. БКЯ характеризується відсутністю імунної відповіді на пріонову інфекцію. Це пов’язано з тим, що нормальна форма  $PrP^C$  завжди присутня в організмі, в тому числі в *T*- і *B*-лімфоцитах. Однак *in vitro* було показано, що антитіла до декількох епітопів  $PrP$  інгібують розмноження  $PrP^{Sc}$ . Вакцинація рекомбінантним  $PrP$  перед або одразу після інфікування й пасивна

імунізація антитілами проти деяких епітопів *PrP* призводили до інгібування реплікації пріона й відсрочення розвитку захворювання. Якщо в основі розвитку різних патологічних процесів, які перебігають в мозку під час БКЯ, дійсно лежить накопичення агрегатів невірно конфігурованих білків, то постійно розробляються методи, які б дозволили лікувати такі стани. *Перший підхід* може ґрунтуватись на стабілізації нормального стану білка. Цього можна досягти, підвищивши в клітині рівні низькомолекулярних сполук, як стабілізаторів нормальної структури білка, або забезпечуючі в клітині синтез таких мутантів досліджуваного білка, які могли б утворювати лише правильну конформаційну структуру. Відомо, що введення певних мутацій робить неможливою неправильну упаковування білка й тим самим буде запобігати накопиченню білкових агрегатів. Відомо, що заміни Q171R в білку *PrP* овець і E219K в *PrP* людини несумісні з утворенням пріонової форми *PrP<sup>Sc</sup>*. Мутації, які призводять до цих амінокислотних замін в *PrP* овець і людини, були введені в ген *Prnp* миші. Відповідні рекомбінантні мутантні білки мишей не переходили в патологічну ізоформу *PrP*, а також інгібували формування *PrP<sup>Sc</sup>* в клітинних культурах дикого типу. Ці мутації мали домінантно-негативні прояви, оскільки попереджали перехід нормального білка *PrP* мишей в пріоновий стан. Для того, щоб була можливість використання домінантно-негативних мутантів *PrP* в генотерапії пріонових захворювань, були розроблені лентивірусні вектори для доставлення кодувальної їх ДНК *in vivo* (*перший варіант*). В культурах нейронів миші було показано, що трансдукція клітин лентивірусними віріонами, які містять описані вище мутантні алелі *Prnp*, призводять до значного зниження рівнів *PrP<sup>Sc</sup>*. Зрозуміло, що такий підхід доволі складний і передбачає розвиток методів генної терапії. *Другий підхід* ґрунтується на індукції в клітині синтеза спеціальних коротких пептидів, які б блокували утворення бета-складчастої структури і тим самим блокували агрегацію досліджуваного білка. Крім пептидів, деякі хімічні сполуки (такі як тетрациклін, 4-йод-4-дезоксидоксорубіцин) перешкоджають неправильному згортанню білка й навіть сприяють дисоціації вже сформованих агрегатів. *Третій підхід* це синтез сполук, які б конкурентним чином взаємодіяли або з мономерним білком, або з кінцями агрегата, що формується. Й в одному, й в іншому випадку ці сполуки або мають перешкоджати вбудовуванню неправильно згорнутого мономера в полімер що росте, або блокували б зростання вже сформованих агрегатів. Відомо, що деякі фарбники (наприклад, конго червоний), а також деякі



білки (наприклад, аполіпопротеїн Е або протеоглікани) специфічно взаємодіють з бета-амілоїдними структурами й можуть перешкоджати їх росту. використання таких сполук виглядає доволі перспективним, однак слід з'ясувати, що є першопрчиною утворення агрегатів. Може виявитись так, що короткі агрегати, які утворюються під час фрагментації довгих полімерів будуть виступати як своєрідні зародки-затравки й тим самим будуть сприяти, а не перешкоджати розвитку захворювання. *Четвертий варіант підходу* ґрунтується на тому, що є сенс прискорити або покращити процес видалення агрегатів, які утворилися. Цього можна досягти використовуючи антитіла, напрацьовані на агреговані форми білка. На жаль, і цей процес не є безпечним, тому що він може спричинити запальні реакції, наслідком чого буде загибель сусідніх із вогнищем ураження здорових клітин (Yahno N.N. et al., 1997; DeArmond S. et al., 1996; Zavalishin I.A. et al., 2000; Shnayder N.A., 2007, 2014; Pokrovskiy V.I. et al., 2007; Peresedova A.V., Zavalishin I.A., 2012; Shuleshova N.V. et al., 2014; Geschwind M.D., 2015; Zinoveva O.E. et al., 2016).

**Профілактика.** Практично профілакувати можна лише набуту БКЯ. Для попередження БКЯ або ВБКЯ медичні працівники які мають справу з рідинами й тканинами інфікованих або ймовірно інфікованих людей, також люди, які доглядають за такими хворими й працівники похоронних бюро, повинні використовувати рукавички й маски. Використовувати суворі заходи із дезінфекції матеріалів (наприклад, хірургічних інструментів), які контактують з інфікованими або ймовірно інфікованими тканинами (загальноприйняті процедури очищення й стерилізації не знищують пріони). Прикривають порізи й садна пов'язками з водонепроникного матеріалу. Уникають порізів і злипань на тканині, куди може потрапити кров пацієнта. Використовують одноразову постільну білизну та інші тканини призначені для таких пацієнтів. Якщо одноразові матеріали недоступні, звичайну тканину слід замочити в нерозбавленому хлоровмісному відбілювачі протягом години або більше, а потім прати звичайним способом після кожного використання. Використовувати засоби захисту обличчя, якщо існує ризик розбризкування забрудненого матеріалу, такого як кров або спинномозкова рідина.

У разі потреби застосування людям використовують лише синтетичний людський гормон росту, але не гормон росту виділений із гіпофіза померлих людей. Для пересадження роівки або інших тканин і органів, переливання крові не використовують їх від людей, яких підозрюють у можливному впливі на них БКЯ або ВБКЯ.

Пріонові інфекції передаються трансмісивним шляхом, тому як уже зазначалось, інфікування пацієнта БКЯ може бути ятрогенним. Шлях інфікування пріонами відіграє важливу роль в розвитку захворювання й має певну ієрархію. За ступенем значущості шляхи інфікування можна розподілити в такій послідовності: інтрацеребральний, інтравенозний, інтраперитонеальний, підшкірний, оральний (в разі використання м'яса заражених губчасто енцефалопатією ВРХ тварин). Оскільки передача пріонових хвороб від людини до людини передбачає пряму передачу інфекційного матеріалу, під час роботи з хворими в процесі інвазивних процедур, а також в разі контакту з їх біологічними рідинами необхідно дотримуватися правил, передбачених під час роботи з хворими на СНІД. Під час розтину загиблих від цього захворювання людей використовують ті самі правила. В разі виявлення можливої БКЯ (або інших пріонових захворювань) слід негайно інформувати центр громадського здоров'я МОЗ про випадки виявлення хвороби, необхідно виключити повторне використання голкових електродів для ЕЕГ, електроміографії (ЕМГ), спинномозкової пункції, хірургічних та інших медичних інструментів, якщо вони вже використовувались для проведення діагностичних і лікувальних маніпуляцій хворій на пріонове захворювання людини (Zavalishin I.A. et al., 2000; Shnayder N.A., 2007, 2014; Shuleshova N.V. et al., 2014; Zinoveva O.E. et al., 2016).

Слід пам'ятати, що пріон є доволі стійким до інактивації, тому звичайних процедур стерилізації, включно із застосуванням автоклавування, використання сухожарової шафи, кип'ятіння тощо для знищення цього інфекційного агента недостатньо. Інструменти, які використовувались і були в контакті з інфікованим матеріалом, повинні зберігатись окремо навіть після ретельної обробки й інактивації й використовуватись згодом лише для того ж хворого або лише для пріон-інфікованих тканин (наприклад, в патолого-анатомічному відділенні). Нині вже розроблені спеціальні ефективні протоколи інактивації пріонів з використанням, гідроксиду натрію й автоклавування, для обробки хірургічних та інших інструментів призначених для інвазивних процедур, утилізації тканин і фізіологічних рідин (особливо ліквору й крові) хворих на БКЯ. Наприклад замочування інструментів, які контактували з пацієнтом, в нерозведеному хлорвмісному відбілювачі протягом години й довше, потім стерилізують їх в дистильованій воді в автоклаві (скороварці) не менше 1-ї години за температури 132–134°C.

Повідомлялось про небезпеку деяких способів передачі пріонів після виявлення пріонових включень в тканинах мигдаликів, описані також випадки зараження під час примірювання контактних лінз. Згідно з рішенням *FDA* (2003, 2005) заборонено використання харчових продуктів, лікарських препаратів і косметичних засобів матеріалів виготовлених із біоматеріалів від великої рогатої худоби, які мають найбільший ризик передачі губчастої енцефалопатії людині й розвитку нвБКЯ (нового варіанту хвороби Крейцфельда-Якоба), включно з ураженими тканинами (*BSE*) від великої рогатої худоби: тканини великої рогатої худоби в 3-місячному віці і старші в разі найбільшої ймовірності інфікування БКЯ, а також мигдалики й дистальна частина кишківника ВРХ усіх вікових груп; механічно перероблене м'ясо (яловичина); тканини великої рогатої худоби, які пройшли ветеринарно-санітарну експертизу й допущені для споживання в їжу.

В 1999 році *FDA* рекомендувала виключити із можливих потенційних донорів усіх осіб, які прожили 6 і більше місяців у країнах, де були зареєстровані спалахи губчастої енцефалопатії ВРХ (переводсім Великобританії), адже існувала проблема контамінації пріонами лікарських препаратів й тканин організму (включно з кров'ю), які можуть спричинити нвБКЯ. В окремих країнах навіть були запроваджені обмеження на трансплантацію твердої мозкової оболонки. Джерелами пріонів можуть бути тканини оленів і лосів. Дослідження показали, що хвороби стають “популярними” навіть у віддалених регіонах (США), оскільки мисливці вживають м'ясо диких впольованих жуйних, й у разі зараження можуть бути потенційними джерелами ятрогенної передачі пріонів іншим людям. Оскільки інкубаційний період пріонозу достатньо тривалий і безсимптомний, то будь-який біологічний матеріал, який відбирають у хворого, має потенційну небезпеку з точки зору ятрогенного інфікування як для інших пацієнтів, які обслуговуються в такій клініці, так і для її медичних працівників. У разі виявлення випадків БКЯ завжди потрібно з'ясувати у пацієнта і його родичів, чи не був він донором крові або тканин (органів) у минулому. Багато провести генетичний аналіз на наявність пріонового гена в осіб, в сім'ях яких були зареєстровані хворі з подібними патологіями. Більш складною є проблема пренатальної ДНК-діагностики й пов'язане з цим розв'язання питання про переривання вагітності у разі наявності в одного з батьків спадкової пріонної хвороби. Прихований перехід від інкубаційної фази до поступальної перетворює хвору на БКЯ персону на дуже

небезпечне джерело збудника інфекції для людей які її оточують. Незначна доза інфікування, здатність патогену до проникнення через клітинні мембрани (зокрема – кон’юнктиву) й тривалий латентний період в умовах можливого масового інфікування харчами й лікарськими препаратами ще більше загострює проблему. В цій ситуації не може не радувати поява ефективних діагностичних прийомів і тестів для раннього виявлення пріонових патогенів на основі молекулярних методів (Yahno N.N. et al., 1997; DeArmond S. et al., 1996; Shitikova I.E., 1999; Zavalishin I.A. et al., 2000; Gambetti P. et al., 2003; Will R.G., 2003; Pokrovskiy V.I. et al., 2004; Pokrovskiy V.I. et al., 2007; Peresedova A.V., Zavalishin I.A., 2012; Zavalishin I.A., 2017; Shnayder N.A., 2007, 2014; Shuleshova N.V. et al., 2014; Zinoveva O.E. et al., 2016; Zuev V.A et al., 2020).

Для профілактики розповсюдження вБКЯ, коли збудник може потрапити до організму людини із зараженою яловичиною: – періодично перевіряють велику рогату худобу на предмет зараження збудником губчастої енцефалопатії ВРХ (“коров’ячий сказ”); – знищують інфіковану велику рогату худобу; ретельно регулюють склад кормів для тварин, м’ясо яких споживають люди, наприклад, ВРХ, овець і кіз.

Міністерство сільського господарства США (*U.S. Department of Agriculture, USDA*) нині вимагає обов’язкової щомісячної вибіркової перевірки великої рогатої худоби на благополуччя щодо губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (Nemani S.K. et al., 2020; Notari S. et al., 2018).

## **ХРОНІЧНА ВИСНАЖЛИВА ХВОРОБА**

Хронічна виснажлива хвороба (англ.: *Chronic wasting disease*; абр. назви: *CWD*; *ХВХ*) – це нейродегенеративне пріонне захворювання, яке уражує диких жуйних родини *Cervidae* (оленів, північних оленів, лосів, американських лосів).

**Історична довідка, економічні збитки, зоонозний потенціал.** *CWD* було вперше визнано клінічним симптомом “виснаження” в 1967 р. в оленів-мулів (чорнохвостих оленів) в дослідницькому центрі дикої природи в північному Колорадо і південному сході Вайомінгу. Хворобу не вважали пріонною до 1980 року (Williams E.S., 2005).

*CWD* може бути руйнівною для сільськогосподарських стад. Ця хвороба завжди смертельна, як тільки з’являються клінічні ознаки,

більшість тварин або все стадо в кінцевому підсумку може заразитися. Це одна з найважливіших пріонних хвороб які підлягають контролю. Пріони *CWD* передаються від тварини до тварини, і вони також можуть поширюватися із забрудненого навколишнього середовища протягом двох років і більше. Тисячі диких оленів і лосів, які утримуються у неволі були вбиті в США та Канаді під час проведення заходів з контролю. Крім того, існує занепокоєння щодо будь-якої можливості зараження пріонами *CWD* інших видів тварин і людей. Пріони *CWD* були виявлені в м'язах (м'яси), а також інших тканинах оленячих, і вони можуть потрапляти в їжу людям. Наразі сучасні дані свідчать про те, що *CWD* не є патогенним для людей, інших видів тварин і хижаків, які полюють на оленячих. З усім тим, не виключена можливість того, що збудник цієї хвороби може мати зоонозний потенціал (Fischer, J.R., Nettles, V.F., 2003; CDC, 2007; Chronic Wasting Disease Alliance, 2008, 2011, 2016; Colorado Division of Wildlife, 2009; Gilch S. et al., 2011; Gilch S., 2013, 2016; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Houston F., Andréoletti O., 2018).

**Характеристика збудника.** *CWD* є членом групи трансмісивних губчастих енцефалопатій (*TSEs*), які характеризуються нейродегенеративними розладами й спричинені пріонами. Нині дослідники зазначають, що може бути більше одного варіанта пріону *CWD*. На це вказували відмінності в часі інкубації, клінічній картині захворювання та гістопатологічних змінах в експериментально інфікованих мишей та під час пасажування пріонів (La Fauci G. et al., 2006). Згодом дослідниками було встановлено існування принаймні двох різних штамів *CWD* (*CWD1* і *CWD2*). Автори дослідження вказували, що олені переважно уражувались сумішшю *CWD1* і *CWD2*, тоді як лосів уражували або лише штам *CWD1* або *CWD2* (Béringue V. et al., 2008; Angers R.C. et al., 2010).

Нещодавно у 3 лосів (*Alces alces*) у Норвегії було виявлено захворювання, яке назвали нетиповим *CWD*, або новим типом *CWD* або *Nor16CWD*. Дослідження показали, що молекулярні та імуногістохімічні (*IHC*) фенотипи відрізняються від описаних раніше для класичних *CWD* у Північній Америці, а також від попередніх спалахів у північних оленів у Норвегії (Pirisinu L. et al., 2018; Orge L. et al., 2021).

**Епізоотологічні відомості.** Діапазон *CWD* з часу відкриття його пріонного походження значно розширився. Нині хворобу виявлено серед представників родини оленячих (*Cervidae*), які утримуються в неволі й серед диких оленячих у 20 штатах США. Вогнища захво-

рювання виявлялися на схід до Мериленду, Пенсільванії та Вірджинії, на північ до Вісконсину та Південної Дакоти, а також у Юті, Нью-Мексико та Техасі. Однак поширення захворювання неоднозначне, і деякі штати в цих територіях не повідомляли про хворобу (Kreeger T., 2003; Jacques C.N. et al., 2003; Jennelle C.S. et al., 2009). Вважається, що деякі штати з обмеженими спалахами диких оленячих (наприклад, Нью-Йорк) ліквідували CWD; однак наявність інфікованих диких оленячих у сусідніх штатах може зробити їх постійний статус невизначеним (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC, 2016*). Хворобу виявили також у двох канадських провінціях (Саскачеван та Альберта) (*Canadian Food Inspection Agency, 2016*). Крім того, інфекцію CWD було підтверджено в ізольованих популяціях оленячих, які утримуються у неволі в Кореї (2004–2010) через імпорт інфікованих CWD тварин із Канади (Sohn H.J. et al., 2002; Promed Mail, 2014; *Canadian Food Inspection Agency, 2016*). У квітні 2016 р. CWD було виявлено в популяції північних оленів на вільному вигулі в Норвегії, а згодом (червень 2016 р.) у двох лосів в Норвегії (*The Norwegian Veterinary Institute, 2016; Promed Mail, 2016*). Ці результати можуть вплинути на статус Європейського Союзу як країни, вільної від CWD (*European Food Safety Authority, 2010*).

Повідомлялося про випадки природного зараження американського чорнохвостого оленя (*Odocoileus hemionus*), чорнохвостого колумбійського оленя (*O. hemionus columbianus*), білохвостого оленя (*O. virginianus*), лосів Скелястих гір (*Cervus elaphus nelsoni*), благородного оленя (*Cervus elaphus*), лося (*Alces alces shirasi*) та диких північних оленів (*Rangifer tarandus tarandus*). Є неопубліковані повідомлення про зараження плямистих оленів, які утримуються у неволі (*Cervus nippon*), а також нащадків від схрещування плямистого і благородного оленя з Південної Кореї. Карибу, які є підвидами *R. tarandus* (наприклад, *Rangifer tarandus caribou*, *Rangifer tarandus granti*), також можуть бути сприйнятливі. Оленя, якого називають мунтжак китайський (*Muntiacus reevesi*) було інфіковано шляхом перорального зараження в лабораторії; однак лань (*Cervus dama dama*) виявилась стійкою до експериментального зараження CWD (Kim T.Y. et al., 2005; Baeten L.A. et al., 2007; Balachandran A. et al., 2010; Thomsen B.V. et al., 2012; Nalls A.V. et al., 2013; Haley N.J., Hoover E.A., 2015).

Дослідження лосів Скелястих гір показали, що поліморфізм в PRNP кодоні 132, який кодує метіонін або лейцин, може впливати на чутливість до виснажливої хвороби (Schätzl H.M. et al., 1997). Було

виявлено найбільшу кількість тварин з генотипом 132MM *PRNP* серед лосів, інфікованих *CWD* (Spraker T.R. et al., 2004). Подальші дослідження лосів на вільному вигулі в Колорадо з підтвердженням *CWD*, також показали серед них найбільшу кількість генотипів 132MM, 132ML або 132LL (Perucchini M. et al., 2008).

Дослідники зазначають, що показники розповсюдженості цієї хвороби на вільному вигулі становлять <5 % у оленів і <2,5 % у лосів, іноді досягають показників до 50 % уражених тварин в популяціях на вільному вигулі й >90 % тварин, які утримуються в неволі (Mathiason С.К., 2017).

Виявлення *CWD* в Норвегії стало несподіванкою для вчених. Адже ніхто не має даних щодо розповсюдження збудника в популяції, до цього часу не з'ясовано це збудник “місцевого” походження або збудник занесений з Північної Америки (Norwegian Food Safety Authority, 2016; Benestad S.L. et al., 2016; Stokstad E., 2017). Хоча природне або антропогенне переміщення тварин може відігравати найбільш важливу роль в розповсюдженні *CWD*, переміщення туш тварин, імовірно, також було залучене в розповсюдження збудника (Picard J., 2005; Watts T., 2009). Роль продуктів забою і біологічних рідин у розповсюдженні збудника залишається до кінця не з'ясованою, хоча очищені від кісток м'язи (Angers R.C. et al., 2006), жир (Race B. et al., 2009), панти (Angers R.C. et al., 2009), слина (Haley N.J. et al., 2009; Mathiason С.К. et al., 2006), кал (Tamguney G. et al., 2009) і сеча (Haley N.J. et al., 2009) виявились заразними в експериментальних умовах.

Нині відсутні докази того, що пріонами *CWD* були інфіковані будь-які тварини, окрім оленячих у природі. З видів, яких вдалося заразити експериментально (пероральний шлях) належать білячі мавпи або саймірі (*Saimiri sciureus*) (Marsh R.F. et al., 2005). Макаки *Cynomolgus* (*Macaca fascicularis*) виявились стійкими до експериментального внутрішньоцеребрального або перорального зараження. Деякі інші ссавці, у тому числі велика рогата худоба, вівці, кози, тхори, норки, кішки, полівки та кілька північноамериканських або європейських гризунів, виявились сприйнятливими в разі прямого внутрішньомозкового зараження пріонами *CWD*, адже саме цей метод зараження дозволяє обходити звичайні видові бар'єри. Однак спроби заразити велику рогату худобу, котів, тхорів чи норок шляхом згодування їм пріонів від хворих оленячих зазнали невдачі (Gould D.H. et al., 2003; Race B. et al., 2009, 2014; Greenlee J.J. et al., 2012; Seelig D.M. et al., 2015).

Епізоотологічний аналіз показує, що велика рогата худоба на-вряд чи буде вразливою до цього пріона. Адже *CWD* не рееструва-лась у великої рогатої худоби, яка випасалася разом з оленями чи лосями, навіть на неблагополучних територіях. Дослідження пока-зують, що видові бар'єри під час перорального зараження овець пріонами *CWD*, є дещо нижчими ніж у великої рогатої худоби. Нині не існує жодних доказів зараження *CWD* у диких стерв'ятників, включно з койотами (*Canis latrans*), норками (*Mustela vison*), опосу-мами (*Didelphis virginiana*), енотами (*Procyon lotor*) та іншими вида-ми в ендемічних районах. У енотів, заражених внутрішньомозковим шляхом, не було ознак реплікації пріонів. Пріони *CWD* слабо розм-ножуються в організмі більшості лабораторних гризунів (включно з мишами дикого типу), хоча хом'яки, порівняно з іншими видами більшою мірою сприйнятливі до внутрішньомозкового зараження (Kreeger T.J. et al., 2006; Harrington R.D. et al., 2008; Sigurdson C.J. et al., 2008; Heisey D.M. et al., 2010; Hamir A.N. et al., 2003, 2008, 2007, 2011; Haley N.J. et al., 2009, 2011, 2013; Lee Y.H. et al., 2013; Nichols T.A. et al., 2015; Manjerovic M.B. et al., 2014; Haley, N.J., Hoover, E.A., 2015; Kurt T.D., Sigurdson C.J., 2016).

Розповсюдження збудника на периферію, а згодом і вихід з ор-ганізму одночасно з ураженням центральної нервової системи сприяє виділенню *de novo* неправильно згорнутого *PrP<sup>Sc</sup>* в навко-лишне середовище, зі збереженням циклу передачі. Більшість дос-ліджень показує, що поява неправильно згорнутої ізоформи *PrP<sup>Sc</sup>* в периферійних тканинах і початок виділення може відбуватись за декілька місяців або, можливо, років до появи клінічних ознак. Доклінічне периферійне накопичення пріонів (Tamgüney G. et al., 2009) і їх виділення з рідинами організму значною мірою сприяє непомітному переміщенню хвороби в райони, вільні від *CWD*, че-рез інфікованих тварин й побічні продукти, описані вище (Gilch S. et al., 2011; Brandt A.L. et al., 2015; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Haley N.J., Richt J.A., 2017).

В 2015 році американські дослідники виявили, що рослини мо-жуть бути переносниками пріонів. Хом'якам згодовувалась трава, вирощена на ґрунті, де було закопано загиблого від *CWD* оленя. Зго-дом з'ясувалось, що піддослідні тваринки захворіли на *CWD*. Отже, було доведено, що пріони з ґрунту можуть переходити в стебла й листя рослин, які потім стають факторами передачі збудника для ін-ших тварин (Elder A.M. et al., 2013; Beecher C., 2015; Pritzkow S. et al., 2015).



Горизонтальна передача пріонів *CWD*, легко відбувається між оленячими. Провідними шляхами передачі вважають аліментарний і аерогенний (Nichols T.A. et al., 2013; Haley N.J. et al., 2016). Пріони *CWD* з організму хворої тварини або носія виділяються з сечею, фекаліями, слиною, кров'ю (Mathiason C.K. et al., 2006). В клінічній стадії хвороби, й навіть під час носійства збудника пріони виділяли майже в усіх тканинах господарів включно зі скелетними м'язами, жиром, внутрішніми органами, органами центральної нервової системи тощо. Пріони навіть виділяли із пантового порошку виготовленого з рогів оленів. Нині вертикальна передача пріонів (від матері потомству внутрішньоутробно) *CWD* зареєстрована у дикого лося, а також у китайського мунтжака. Загалом, наявність пріонів в крові й лімфоїдних тканинах говорить за те, що жодні з тканин інфікованих оленів не слід вважати вільними від пріонів. До цього часу невідомо чи можуть пріони *CWD* виділятися з молоком (Angers R.C. et al., 2006; Jewell J.E. et al., 2006; Race B. et al., 2009; Gough K.C., Maddison B.C., 2010; Daus M.L. et al., 2011; Gilch S. et al., 2011; Henderson D.M. et al., 2013; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Waddell L. et al., 2018). Протягом тривалого часу пасовища де перебували хворі тварини або їх трупи (скелети, тканини тощо) залишаються небезпечними для здорових тварин (Angers R.C. et al., 2006, 2009; Nalls A.V. et al., 2021). Відомо що збудники-пріони цього захворювання можуть залишатись інфекційними в довкіллі не менше 2 років (Miller M.W. et al., 2004).

Сучасні спостереження, розслідування підозрілих випадків неврологічних захворювань у людей та епідеміологічні дослідження не виявили доказів того, що *CWD* є зоонозом. Експериментальні інфекції у білячих мавп спричинили певне занепокоєння. Однак, нездатність пріонів *CWD* інфікувати макак *synomolgus*, приматів, більш близьких до людей, давала приводи до оптимізму (Race B. et al., 2018). Дослідження молекулярної сумісності свідчать про те, що існує значний видовий бар'єр, а пріон *CWD* погано пристосований до інфікування людей. Тим не менш, деякі дослідники не виключали можливість того факту, що *CWD* має зоонозний потенціал (Kong Q. et al., 2005). Вже більш пізні дослідження групи дослідників (Czub S. et al., 2021) на макаках все-таки підтвердили зоонозний потенціал цієї хвороби. Інші дослідники вказують, що нині не існує епідеміологічних відомостей про зв'язок між *CWD* і розвитком *CJD* (Mawhinney S. et al., 2006; Gilch S. et al., 2011; Olszowy K.M. et al., 2014; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Waddell L. et al., 2018).

Хоча остаточно безпосереднє зараження людини пріонами *CWD* ще не доведено, постійно існує значний ризик для мисливців і лісників, які часто знаходяться у прямому контакті з інфікованими тваринами, а також людей які вживають оленяче м'ясо в їжу (Belay E.D. et al., 2004; Saunders S.E. et al., 2012; Saunders S.E. et al., 2012; Olszowy K.M. et al., 2014; Waddell L. et al., 2018; Sakudo A., 2020; Osterholm M.T. et al., 2019; Nemani S.K. et al., 2020).

Пріони *CWD* можуть передаватися через заражені екскременти й рідини навіть від тварин, які ще не проявляють клінічних ознак. Імовірно, пріони зберігаються в зовнішньому середовищі протягом декількох років. Повідомлялось про випадки зараження після контакту з інфікованими рештками загиблих тварин, які залишились просто неба на пасовищах приблизно за два роки до цього. Також повідомлялось про можливість зараження тварин на пасовищах більш ніж через два роки після випасання й видалення звідти інфікованих оленів. Пріони *CWD* можуть залишатися заразними після проходження через травний канал стерв'ятників або хижаків, які з'їдають рештки VerCauteren K.C. et al., 2012. Останнє було продемонстровано в лабораторії на койотах і воронах. Пріони можуть зв'язуватися з ґрунтом, а зв'язані з ґрунтом пріони заразні для оленячих. Їх стійкість може суттєво відрізнятись залежно від типу ґрунту. Повідомлялося також, що повторні цикли зволоження й висихання ґрунту в лабораторії знижують, хоча й не обов'язково усувають інфекційність (Mathiason C.K. et al., 2009; Smith C.B. et al., 2011; Xu S. et al., 2014.). Розповсюдженість цього пріозою може досягати 30% серед диких тварин в стадах на вільному вигулі в Північній Америці й до 90% у тварин у науково-дослідних установах, які проводять роботи зі збудником. Інфекційні пріони які потрапляють зі слини, сечі й фекалій інфікованих тварин забезпечують існування природних вогнищ інфекції серед оленів в разі забруднення навколишнього середовища (Miller M.W., Wild M.A., 2004; Miller M.W. et al., 2004; Mathiason C.K. et al., 2009; Haley, N.J., Hoover, E.A., 2015). Наявність пріонів *CWD* було навіть продемонстровано в пробах води в ензоотичних із цього захворювання територій (Collinge J., Clarke A., R., 2007; Nichols T.A. et al., 2009).

Більшість випадків *CWD* в оленячих (цервидів) у неволі відбувається у віці від 2 до 7 років. Генотип тварини може впливати на такі фактори, як її сприйнятливість до інфекції, тривалість інкубаційного періоду та/або прогресування клінічних ознак, але жоден генотип

оленячих не є повністю стійким до цього захворювання. В разі організації нових стад, й комплектування їх молодими здоровими тваринами, приховане носійство пріона *CWD* може становити менш ніж 1%. Однак, як тільки хвороба закріпилася, 50% або більше поголів'я заражаються. У деяких випадках захворюваність може досягати 100%. Попри високий рівень зараження, лише одна або кілька тварин, як правило, мають ознаки захворювання одночасно. Хронічна виснажлива хвороба завжди закінчується смертю тварини після появи симптомів.

У Північній Америці поширеність *CWD* серед диких cervидів становить < 5% у оленів і < 2,5% у лосів у більшості уражених районів. Однак цей відсоток відрізняється в різних регіонах і може бути вищим (наприклад, < 15% оленів у деяких регіонів штатів Колорадо та Вісконсину). У кількох локалізованих “гарячих точках” *CWD* було виявлено у 10–12% лосів і у 50% диких оленів. Дослідники припускають, що відсоток уражених тварин у стадах може бути значно більшим. Переважна більшість випадків, виявлених під час спостереження за дикими оленями та лосями, були субклінічними. Лосі мають тенденцію до відособленого способу життя, що, ймовірно, знижує ризик передачі, й відповідно, дослідниками було виявлено дуже мало інфікованих лосів (менше десятка випадків у Північній Америці та Європі, станом на 2016 рік)(Robinson S.J. et al., 2012; Gilch S. 2016; Haley N.J. et al., 2016; Waddell L. et al., 2018).

**Патогенез.** Патогенез і поширення *PrP<sup>Sc</sup>* у *CWD* дуже подібні до того, що було виявлено за класичної форми скрепи у дрібних жуйних тварин. Початкове потрапляння агента відбувається через мигдалики та *GALT* зі швидким залученням лімфоретикулярної системи (*LRS*) і нервової системи кишківника, а вже потім відбувається нейроінвазія збудника в ЦНС через вегетативну нервову систему (Fox K.A. et al., 2006; Race B.L. et al., 2007; Sigurdson C.J. et al., 2002). Роль *LRS* у цьому процесі у різних видів оленячих неоднорідна, що пов'язано з більшою або меншою кількістю аномальних пріонів) (Race B.L. et al., 2007).

Ускладнює ситуацію тривалий інкубаційний період захворювання, адже між попереднім впливом і появою клінічних симптомів може проходити багато часу. Для розвитку захворювання інфекційний білок *PrP<sup>Sc</sup>* повинен проникати з периферії. Найбільш імовірним є пероральний вплив, і вже потім потрапляння інфекційного білка *PrP<sup>Sc</sup>* в центральну нервову систему (Gilch S. et al., 2011; Haley N.J., Hoover E.A., 2015). У тварин уражених *CWD* *PrP<sup>Sc</sup>* може широко

поширюватися нервовою системою, а також через лімфоретикулярну та кровотворну системи, збудник виявляється в підшлунковій залозі, серці, язиці, скелетних м'язах, жирі, сітківці, плаценті, печінці, нирках, а також наднирниках та слинних залозах, пантах (Sigurdson C.J. et al., 2001; Race B. et al., 2009; Angers R.C. et al., 2006, 2009; Seelig D.M. et al., 2010; Spraker T.R. et al., 2010; Mitchell G.B. et al., 2012; Arifin M.I. et al., 2021).

**Клінічні ознаки та перебіг.** Інкубаційний період за цього захворювання становить 16–18 місяців, а середній інкубаційний період, ймовірно, становить від 2 до 4 років. Пік захворюваності припадає на вік від 2 до 7 років. Вчені зазначають, що також можливі й більш тривалі інкубаційні періоди; в стадах, де *CWD* є ендемічною хворобою, зареєстровані випадки захворювання у тварин старших 15 років. Прогресивне накопичення *PrP<sup>Sc</sup>* в ЦНС зумовлює розвиток клінічних ознак *CWD*.

Клінічні ознаки характеризуються втратою маси тіла, втомлюваністю, зміною поведінки, слинотечею, утрудненим ковтанням, полідипсією (невгамовною спрагою), поліурією й поступальною атаксією. У прикінцевій стадії захворювання у більшості тварин виникають рухові розлади, включно з гіпокінезією, гіперметрією й загальним парезом. У хворих тварин проявляється тремор шиї й морди, скрегіт зубами. Синдром виснаження настає, навіть попри те, що у тварин зберігається добрий апетит. Деякі тварини під час ходи низько несуть голову й мають фіксований погляд, можуть безцільно ходити за периметром свого вольєра. Частина тварин мають проблеми з ковтанням, що призводить до значного слиновиділення. Описані випадки розвитку розширення стравоходу й регургітація або аспіраційна пневмонія, яка призводить до смерті. Полідипсія / поліурія і непритомність можуть виникати на пізніх стадіях захворювання. Повідомлялось про репродуктивні втрати, включно з мертвородами й загибеллю потомства одразу після народження, в експериментально заражених оленів мунтжаків. Більшість тварин з клінічними ознаками гинуть протягом декількох місяців, хоча деякі можуть жити до року й більше. Іноді хвороба може тривати всього декілька днів, особливо у лосів. В термінальній стадії *CWD* в оленів і лосів спостерігається полідипсія і поліурія. Хвороба завжди закінчується смертю. Чорнохвості олені в яких хвороба перебігає безсимптомно або проявляється незначними клінічними ознаками (легка атаксія, втрата маси тіла) можуть гинути раптово (Williams E.S., 2005; Gilch S. et al., 2011; Haley N.J., Hoover E.A., 2015).

**Патолого-анатомічні зміни** неспецифічні. На пізніх стадіях хвороби трупи завжди виснажені, шерсть часто груба й суха. У частини тварин спостерігається мегаезофагус (дифузне розширення стравоходу) і аспіраційна бронхопневмонія. Вміст рубця часто водянистий, може бути пінистим або містити значну кількість піску та гравію. Виявляють виразки в кишківнику. У тварин, які мали доступ до води, сеча є рідкою. В деяких трупах оленів виявляють ознаки зневоднення. Стан туш окремих загиблих тварин задовільний, з незначною кількістю серйозних уражень або без них, особливо на ранніх стадіях захворювання (Williams E.S., 2005; Winter S.N., Escobar L.E., 2020).

Характерні гістопатологічні ураження обмежуються центральною нервовою системою (ЦНС). Під час *CWD* мікроскопічні зміни найбільш помітні в проміжному мозку, нюховій корі та ядрах довгастого мозку, але менш значні зміни можуть бути виявлені в інших ділянках головного та спинного мозку. Нейрональна вакуолізація і незапальні губчасті зміни сірої речовини є патогномонічними. Може спостерігатися астроцитоз. Амілоїдні бляшки досить поширені в оленів, але імуногістохімічне фарбування є необхідним, щоб продемонструвати наявність амілоїду в лося. Ураження зазвичай двобічно-симетричні (Williams E.S., 2005; Gilch S. et al., 2011; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Winter S.N., Escobar L.E., 2020).

**Діагностика.** Гістологічні методи досліджень (після загибелі або забою тварин) дозволяють підтвердити наявність губчастих змін. Проте деякі тварини на ранніх стадіях *CWD* мають незначні або в них зовсім відсутні губчасті зміни. Це захворювання зазвичай підтверджується виявленням пріонів у ЦНС та/або лімфоїдних тканинах, особливо заглоткових лімфатичних вузлах, під час розтину. Пріони можна знайти в лімфоїдних тканинах більшості загиблих оленів, навіть у деяких випадках, коли вони ще не виявляються в мозку; однак у лосів виявляють меншу кількість позитивних лімфоїдних зразків. З тканин головного мозку оптимальним для діагностичних досліджень є довгастий мозок. Пріони можна знайти в ділянках мозку, які не мають губчастих змін. У живих тварин хронічне виснаження можна діагностувати за допомогою біопсії мигдаликів (олені) або біопсії ректальних лімфовузлів (оленів і лосів). Чутливість цих тестів залежить від виду тварини, генотипу та стадії захворювання, і можливі помилкові негативні результати. Біопсію слизової оболонки прямої кишки можна робити без седативних засобів, використовуючи лише місцеву анестезію та фіксацію тварин.

Біопсія мигдаликів вимагає проведення її з використанням анестезії (Schuler K.L. et al., 2005).

Біопроба на тваринах може бути використана для виявлення пріонів *CWD* за особливих обставин, однак ця методика є тривалою та трудомісткою (Haley N.J., Hoover E.A., 2015).

Нині розроблені діагностичні тести для виявлення хворих *CWD* тварин: вестерн-блотинг (*WB*) (Guiroy D.C., et al., 1993), імуногістохімія (*IHC*) (донині вважається “золотим стандартом” діагностики цього захворювання) (Guiroy D.C., et al., 1991; Keane D. et al., 2009; Martin S. et al., 2009), імуноферментний аналіз (*EIA*) (Hibler C.P. et al., 2003). Фактично ці тести здатні відрізнити нормально згорнутий клітинний пріонний білок ( $PrP^C$ ) і неправильно згорнутий (інфекційна ізоформа) ( $PrP^{res} / PrP^{Sc}$ ).

Наявність пріонів *CWD* в аутолізованому мозку можна підтвердити шляхом електронної мікроскопії через виявлення характерних пріонних фібрил, однак цей тест має низьку чутливість (Gilch S. et al., 2011; Haley N.J., Hoover E.A., 2015).

Нині вже розроблені й з успіхом використовуються молекулярні методи ампліфікації для виявлення пріонів *CWD* (Soto C. et al., 2002; Atarashi R. et al., 2007). На базовому рівні ці методи використовують схильність  $PrP^{Sc}$  спричинювати конформаційні зміни в нормальному клітинному субстраті пріонного білка ( $PrP^C$ ). Використовуються високі рівні  $PrP^C$ , які отримують з мозку трансгенних мишей або можуть бути використані бактеріальні системи експресії для отримання значних кількостей рекомбінантного  $PrP^C$  з метою подальшого використання як конверсійного субстрату. Руйнування амілоїдних фібрил і генерація нових пріонних “насінин” для ампліфікації можуть бути виконані простим струшуванням або обробкою ультразвуком. Для зчитування результатів аналізів можуть знадобитись методи блотингу з метою візуального виявлення ампліфікованих агрегатів  $PrP^{res}$ , паралельно зі звичайною ПЛІР на основі гелю, використовувати методи з використанням флуоресцентних молекул, які зв’язуються с ростучими амілоїдними волокнами, що дозволяє зчитувати дані, аналогічні кількісній ПЛІР в реальному часі. В кожному разі метою цих методів є підвищення низьких рівнів неправильно згорнутих білків *in vitro*, які можуть бути присутні у зразку, до рівнів, які можна легко виявити із застосуванням традиційних методів. Вперше для виявлення патологічного білка *CWD* було використано метод ампліфікації неправильно згорнутого білка – *PMCA* (*protein misfolding cyclic amplification*) (Kurt T.D. et al., 2007; Haley N.J. et al.,

2009; Rubenstein R. et al., 2011; Nichols T.A. et al., 2012; Pulford B. et al., 2012; Henderson D.M. et al, 2015). Використовують також ще один чутливий метод молекулярної діагностики – метод індукованої вібрацією конверсії (*real time quaking-induced conversion; RT-QuIC*) (Henderson D.M. et al, 2015; Haley N.J., Richt J.A., 2017). Ці методи виявляють крихітні кількості пріонів за їх здатністю перетворювати *PrP<sup>c</sup>* (звичайний клітинний пріон) у патологічний *in vitro*. Іноді за допомогою цих методів можна виявляти пріони в крові, слині, сечі, фекаліях чи інших зразках субклінічних інфікованих тварин, а також у спинномозковій рідині тварин із клінічними ознаками. Ці реакції можна використовувати як передсмертні діагностичні тести. Використання цих методів іноді дозволяє виявляти низькі рівні пріонів *CWD* в позачерепних тканинах (наприклад, шлунково-кишковий тракт), які зазвичай не відбирають для діагностики *CWD*.

Дослідники зазначають, що методи *ELISA* й *IHC* не дозволяють виявити оленячих із субклінічними формами захворювання (Haley N.J., Hoover E.A., 2015). Останні розслідування передзабійного спостереження за *CWD* оленячих показали перспективність використання *RT-QuIC* під час дослідження лімфоїдної тканини ректальних біоптатів (чутливість 69,8%, специфічність > 93,9%) (Hale N.J. et al., 2016) та біопсії вушної раковини (чутливість 81%, специфічність 91%) (Ferreira N.C. et al., 2021; Figgie, M.P., Jr, & Appleby, B.S., 2021).

**Профілактика й заходи боротьби.** Нині стада оленячих, які вирощуються в США і Канаді, залучені у добровільних програмах охорони здоров'я стад й контролю за захворюваннями. Участь у таких програмах дозволяє контролювати продаж тварин між штатами або провінціями (*Chronic Wasting Disease Program Standards, USA, 2014; Accredited Veterinarian's Manual, Canada, 2017*). Швидка реакція на випадки цього захворювання є надзвичайно важливою для стримування спалахів у регіонах, вільних від захворювань. Ветеринари, які стикаються або підозрюють хронічне виснаження, повинні дотримуватися своїх національних та/або місцевих рекомендацій щодо звітування про захворювання. Хоча хронічна виснажлива хвороба є ендемічною для США, у багатьох штатах повідомлення про неї є обов'язковим.

Кінцевою метою програм контролю/спостереження цього захворювання у США й Канаді було викорінення інфекції в популяціях тварин (оленячих), які утримуються в неволі. Програми контролю ґрунтуються на ідентифікації (персоналізації) тварин, огорожуванні, обмеженнях щодо поповнення стада, та обов'язкового тестування

на *CWD* тварин, які гинуть або забиті на м'ясо. Проводиться глибокий аналіз випадків загибелі (з ретельними патолого-анатомічними й гістологічними дослідженнями), в разі підтвердження випадків захворювання запроваджуються жорсткі обмежувальні заходи щодо переселення тварин тощо. Однак науковці зазначають, що для ефективного контролю як серед диких, так і тих, оленячих які вирощуються у неволі має бути запроваджене захиттєве тестування перед будь-якими переміщеннями, останнє може виявитись ще одним рівнем безпеки, для запобігання розповсюдженню *CWD*. Хоча було досягнуто прогресу в розробці тестів і стратегії захиттєвого тестування, проте є низка не вирішених питань. Було доведено, що рідини організму є заразними й тому можуть бути використані як діагностичні зразки, але небагато відомо про кінетику виділення збудника з рідинами протягом захворювання. Легкодоступні периферійні тканини (наприклад, мигдалики) мають високу концентрацію збудника на пізніх стадіях захворювання, на ранніх – не мають високої діагностичної цінності. Особливості генетичних характеристик тварини, ураженої збудником також можуть вплинути на виявлення збудника (наприклад, у тварин з повільним прогресуванням хвороби й низьким накопиченням збудника у периферійних тканинах).

В разі, якщо *CWD* виявлено в оленячих, що знаходяться в неволі, стадо зазвичай поміщають на карантин. Розробляються плани оздоровлення стада, а в деяких випадках проводять повну депопуляцію. Туши від тварин, інфікованих *CWD*, не можна використовувати в їжу людям або іншим тваринам, їх знищують. Корейська влада намагалася викоринити *CWD*, шляхом забою всіх імпортованих оленів, а також аборигенних оленів, які контактували з імпортованими або були народжені від них. Контролювати *CWD* дуже важко у диких оленячих. Деякі штати США заборонили практику, масової годівлі оленячих у певних місцях, таким чином намагаючись зменшити швидкість передачі між тваринами, які знаходяться в тісному контакті. Деякі штати також вибраковують свої стада, щоб зменшити щільність поголів'я та зменшити поширення хвороб. Ефективність таких програм вибракування в деяких випадках була цілком задовільною. У багатьох штатах і провінціях США й Канади також діють обмеження щодо транспортування тканин і туш від убитих мисливцями оленів в ендемічних районах (Fischer, J.R., Nettles, V.F., 2003; Anderson C.A. et al., 2007; Gilch S. et al., 2011; Gilch S., 2013, 2016; Haley N.J., Hoover E.A., 2015; Haley N.J., Richt J.A., 2017).



## ХРОНІЧНА ПОСТУПАЛЬНА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ДИТЯЧОГО ВІКУ (ХВОРОБА АЛЬПЕРСА)

Хронічна поступальна енцефалопатія дитячого віку (син.: синдром Альперса) – це пріонна трансмісивна інфекція, яку спостерігають у дитячому віці.

**Епідеміологічні відомості.** Хвороба виникає в дитячому та юнацькому віці (після народження і приблизно до 18 років). Тривалість захворювання в середньому 8–9 місяців (максимально до 1 року). В спеціальній літературі є повідомлення, що захворювання розвивалось у плодів внутрішньоутробно. В цьому разі виявляється мікроцефалія, затримка внутрішньоутробного розвитку, втрата здатності руху м'язів у плода (акінезія), мікро- і ретрогнатія, порушення рухливості суглобів.

Хвороба є спадковою і підпорядковується аутосомно-рецесивному типу успадкування. Описані спорадичні випадки розвитку цього захворювання у більш старшому віці.

**Клінічні ознаки** включають сильний головний біль, порушення зору, численними перед- та інсульто-подібними станами (включно з епілептиформними нападами), прогресивну гіпотонію, ураження печінки (хронічні гепатити, які закінчуються цирозом), нечасто виникає геморагічний панкреатит. Смерть переважно настає внаслідок печінкової недостатності.

Описані випадки виникнення захворювання в пренатальному періоді, в цьому разі спостерігали виражену мікроцефалію, затримку внутрішньоутробного розвитку, акінезію плоду, мікро- і ретрогнатія (зубощелепна аномалія), порушення рухливості суглобів.

**Патолого-анатомічні зміни.** Переважно уражується мозочок, атрофія кори великого мозку може бути відсутня. Хронічна поступальна енцефалопатія, яка, крім того, характеризується хронічним ураженням печінки (цироз).

Під час гістологічного дослідження виявляють спонгіоз, який подібний за морфологією до хвороби Крейцфельда-Якоба. Спостерігають дистрофічні зміни нейронів і астрогліоз кори потиличної області, смугастого тіла, незначною мірою в тім'яній області, склероз амонових рогів, дистрофічні зміни в задніх стовпах спинного мозку і незначне зменшення кількості клітин Пуркін'є в мозочку. Центролобулярні некрози спостерігають в печінці. Хвороба трансмісивна. Її за внутрішньоцеребрального зараження, матеріалом отриманим від загиблих хворих дітей відтворили на хом'яках (Nonno R. et al., 2019; Bizzi A. et al., 2020; Minikel E.V. et al., 2016).

**Диференційну діагностику** слід проводити, в першу чергу, з різними формами спиноцеребелярної дегенерації. Ця форма характеризується ураженням печінки, виникає у пацієнтів дитячого і юнацького віку (від народження до 18 років)(Pokrovskiy V.I. et al., 2004; Pedachenko E.G., Malisheva T.A., 2011).

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Abid, K., Morales, R., Soto, C. (2010). Cellular factors implicated in prion replication. *FEBS letters*, 584(11): 2409–2414. doi: 10.1016/j.febslet.2010.04.040.
2. Abramova, Z.I. (2006) Issledovanie belkov i nukleinovyih kislot. Kazan: Kazanskiy gosudarstvenniy universitet, 157 s.
3. Acín, C., Martín-Burriel, I., Monleón, E., Lyahyai, J., Pitarch, J.L., Serrano, C., ... Badiola, J.J. (2013). Prion protein gene variability in Spanish goats. Inference through susceptibility to classical scrapie strains and pathogenic distribution of peripheral PrP(sc.). *PLoS one*, 8(4): e61118. doi: 10.1371/journal.pone.0061118.
4. Acín, C., Pitarch, J.L. (2016). Controlling scrapie and bovine spongiform encephalopathy in goats. *The Veterinary record*, 178(7): 166–167. doi: 10.1136/vr.i702.
5. Acutis, P.L., Martucci, F., D'Angelo, A., Peletto, S., Colussi, S., Maurella, C., ... Lombardi, G. (2012). Resistance to classical scrapie in experimentally challenged goats carrying mutation K222 of the prion protein gene. *Veterinary research*, 43(1): 8. doi: 10.1186/1297-9716-43-8.
6. Adams D.B. (2018). Evolutionary biology and the risk of scrapie disease in sheep. *Open veterinary journal*, 8(3): 282–294. doi: 10.4314/ovj.v8i3.7.
7. Aguilar-Calvo, P., Espinosa, J.C., Pintado, B., Gutiérrez-Adán, A., Alamillo, E., Miranda, A., ... Torres, J.M. (2014). Role of the goat K222-PrP(C) polymorphic variant in prion infection resistance. *Journal of virology*, 88(5): 2670–2676. doi: 10.1128/JVI.02074-13.
8. Aguzzi, A., Glatzel, M., Montrasio, F., Prinz, M., Heppner, F.L. (2001) Interventional strategies against prion diseases. *Nat Rev Neurosci.*, 2: 745–749. doi: 10.1038/35094590.
9. Aguzzi, A., Heikenwalder, M., Miele, G. (2004). Progress and problems in the biology, diagnostics, and therapeutics of prion diseases. *The Journal of clinical investigation*, 114(2): 153–160. doi: 10.1172/JCI22438.
10. Aguzzi, A., Polymenidou, M. (2004). Mammalian prion biology: one century of evolving concepts. *Cell*, 116(2): 313–327. doi: 10.1016/s0092-8674(03)01031-6.
11. Aguzzi, A. (2008) Unraveling prion strains with cell biology and organic chemistry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(1): 11–12. doi: 10.1073/pnas.0710824105. Epub 2008 Jan 2.
12. Aguzzi, A., Zhu, C. (2012). Five questions on prion diseases. *PLOS Pathog.* 8, e1002651. doi:10.1371/journal.ppat.1002651.
13. Alarcon, P., Marco-Jimenez, F., Horigan, V., Ortiz-Pelaez, A., Rajanayagam, B., Dryden, A., ... Adkin, A. (2021). A review of cleaning and

disinfection guidelines and recommendations following an outbreak of classical scrapie. *Preventive veterinary medicine*, 193: 105388. doi: 10.1016/j.prevetmed.2021.105388.

14. Alberti, S., Halfmann, R., King, O., Kapila, A., Lindquist, S. (2009) A systematic survey identifies prions and illuminates sequence features of prionogenic proteins. *Cell*, 137(1): 146–158. doi: 10.1016/j.cell.2009.02.044.

15. Aldhous P. (1990). BSE: spongiform encephalopathy found in cat. *Nature*, 345(6272): 194. doi: 10.1038/345194c0.

16. Alfonso, D.S., Adriana, Z., Philippe, D. (2007) Structural and hydration properties of the partially Unfolded States of the prion protein. *Biophys J.*, 93(4): 1284–1292. doi: 10.1529/biophysj.107.108613.

17. Allen, K.D., Wegrzyn, R.D., Chernova, T.A., Müller, S., Newnam, G.P., Winslett, P.A., ... Chernoff, Y.O. (2005). Hsp70 chaperones as modulators of prion life cycle: novel effects of SSA and Ssb on the *Saccharomyces cerevisiae* prion [PSI<sup>+</sup>]. *Genetics*, 169(3), 1227–1242. doi: 10.1534/genetics.104.037168.

18. Allen, K.D., Si K., Theis, M., Kandel, E.R. (2005) in abstracts of PRION BIOLOGY – Joint Cold Spring Harbor Laboratory/ Wellcome Trust Conference.

19. Alperovitch, A., Zerr, I., Pocchiari, M., Mitrova, E., Cuesta, J. de P., Hegyi, I., ... Will, R.G. (1999) Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet*. 1999; 353: 1673–1674. doi: 10.1016/s0140-6736(99)01342-2.

20. Altmeppen, H.C., Prox, J., Puig, B., Kluth, M.A., Bernreuther, C., Thurm D, ... Glatzel, M. (2011) Lack of a-disintegrin-and-metalloproteinase ADAM10 leads to intracellular accumulation and loss of shedding of the cellular prion protein in vivo. *Mol Neurodegener*, 6: 36. doi. 10.1186/1750-1326-6-36.

21. Alverson, J., O'Rourke, K.I., Baszler, T.V. (2006). PrPSc accumulation in fetal cotyledons of scrapie-resistant lambs is influenced by fetus location in the uterus. *The Journal of general virology*, 87(4): 1035–1041. doi: 10.1099/vir.0.81418-0.

22. Anderson, C.A., Bosque, P., Filley, C.M., Arciniegas, D.B., Kleinschmidt-Demasters, B.K., Pape, W.J., Tyler, K.L. (2007). Colorado surveillance program for chronic wasting disease transmission to humans: lessons from 2 highly suspicious but negative cases. *Archives of neurology*, 64(3): 439–441. doi: 10.1001/archneur.64.3.439.

23. Anderson, R.M., Donnelly, C.A., Ferguson, N.M., Woolhouse, M.E., Watt, C.J., Udy, H.J., ... Wells, G. A. (1996). Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature*, 382(6594): 779–788. doi: 10.1038/382779a0.

24. Andréoletti, O., Berthon, P., Marc, D., Sarradin, P., Grosclaude, J., van Keulen, L., ... Lantier, F. (2000). Early accumulation of PrP(Sc) in gut-

associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *The Journal of general virology*, 81(12): 3115–3126. doi: 10.1099/0022-1317-81-12-3115.

25. Andréoletti, O., Lacroux, C., Chabert, A., Monnereau, L., Tabouret, G., Lantier, F., ... Schelcher, F. (2002). PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission. *The Journal of general virology*, 83(10): 2607–2616. doi: 10.1099/0022-1317-83-10-2607.

26. Andréoletti, O., Morel, N., Lacroux, C., Rouillon, V., Barc, C., Tabouret, G., ... Lantier, F. (2006). Bovine spongiform encephalopathy agent in spleen from an ARR/ARR orally exposed sheep. *The Journal of general virology*, 87(4): 1043–1046. doi: 10.1099/vir.0.81318-0.

27. Andréoletti, O., Simon, S., Lacroux, C., Morel, N., Tabouret, G., Chabert, A., ... Schelcher, F. (2004). PrPSc accumulation in myocytes from sheep incubating natural scrapie. *Nature medicine*, 10(6): 591–593. doi: 10.1038/nm1055.

28. Andréoletti, O., Orge, L., Benestad, S.L., Beringue, V., Litaïse, C., Simon, S., ... Lacroux, C. (2011). Atypical/Nor98 scrapie infectivity in sheep peripheral tissues. *PLoS pathogens*, 7(2): e1001285. doi: 10.1371/journal.ppat.1001285.

29. Andrews, N.J. (2016) Incidence of variant Creutzfeldt-Jakob disease diagnoses and deaths in the UK January 1994 – December 2011 The National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit [CJD Unit], United Kingdom. Available at: <http://www.cjd.ed.ac.uk/data.html>. Accessed 28 Aug 2016.

30. Andrievskaia, O., Algire, J., Balachandran, A., & Nielsen, K. (2008). Prion protein in sheep urine. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 20(2): 141–146. doi: 10.1177/104063870802000201.

31. Angers, R.C., Browning, S.R., Seward, T.S., Sigurdson, C.J., Miller, M.W., Hoover, E.A., & Telling, G.C. (2006). Prions in skeletal muscles of deer with chronic wasting disease. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5764): 1117. doi: 10.1126/science.1122864.

32. Angers, R.C., Seward, T.S., Napier, D., Green, M., Hoover, E., Spraker, T., ... Telling, G. C. (2009). Chronic wasting disease prions in elk antler velvet. *Emerging infectious diseases*, 15(5): 696–703. doi: 10.3201/eid1505.081458.

33. Angers, R.C., Kang, H.E., Napier, D., Browning, S., Seward, T., Mathiason, C., ... Telling, G. C. (2010). Prion strain mutation determined by prion protein conformational compatibility and primary structure. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5982): 1154–1158. doi: 10.1126/science.1187107.

34. Animal Health Australia. The National Animal Health Information System (NAHIS). Bovine spongiform encephalopathy. Available at: [http://www.brs.gov.au/usr-bin/aphb/ahsq?dislist=alpha.\\*](http://www.brs.gov.au/usr-bin/aphb/ahsq?dislist=alpha.*) Accessed 7 Nov 2001.

35. Animal Health Australia. The National Animal Health Information System (NAHIS). Scrapie [online]. Available at: <http://www.aahc.com.au/nahis/disease/dislist.asp>.\* Accessed 7 Nov 2001.
36. Animal Health Australia. TSE freedom assurance report. 2014–2015. Available at: TSEFAP-2014-15-Final-Report-for-website.pdf. Accessed 28 Sept 2016.
37. Anonymous. Japan to end mandatory testing for mad cow disease. *Japan Times*; 2016 Jul. Available at: <http://www.japantimes.co.jp/news/2016/07/14/world/science-health-world/japan-end-mandatory-testing-bse-next-year/>. Accessed 28 Aug 2016.
38. Appleby, B. S., Appleby, K. K., Hall, R. C., & Wallin, M. T. (2010). D178N, 129Val and N171S, 129Val genotype in a family with Creutzfeldt-Jakob disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 30(5): 424–431. doi: 10.1159/000321472.
39. Appleby, B.S., Rhoads, D.D., Mente, K., Cohen, M.L.(2018) A Practical Primer on Prion Pathology. *J Neuropathol Exp Neurol*. 77(5): 346–352. doi: 10.1093/jnen/nly019.
40. Arata, H., Takashima, H., Hirano, R., Tomimitsu, H., Machigashira, K., Izumi, K., ... Arimura, K. (2006). Early clinical signs and imaging findings in Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (Pro102Leu). *Neurology*, 66(11): 1672–1678. doi: 10.1212/01.wnl.0000218211.85675.18.
41. Araújo A.Q. (2013). Prionic diseases. *Arquivos de neuro-psiquiatria*, 71(9B): 731–737. doi: 10.1590/0004-282X201301461.
42. Arifin, M.I., Hannaoui, S., Chang, S.C., Thapa, S., Schatzl, H.M., & Gilch, S. (2021). Cervid Prion Protein Polymorphisms: Role in Chronic Wasting Disease Pathogenesis. *International journal of molecular sciences*, 22(5): 2271. doi: 10.3390/ijms22052271.
43. Arnold, M.E., Ryan, J., Konold, T., Simmons, M.M., Spencer, Y.I., Wear, A., ... Wells, G. (2007). Estimating the temporal relationship between PrPSc detection and incubation period in experimental bovine spongiform encephalopathy of cattle. *The Journal of general virology*, 88(11): 3198–3208. doi: 10.1099/vir.0.82987-0.
44. Arnold, M.E., Wilesmith, J.W. (2004). Estimation of the age-dependent risk of infection to BSE of dairy cattle in Great Britain. *Preventive veterinary medicine*, 66(1–4): 35–47. doi: 10.1016/j.prevetmed.2004.07.007.
45. Arzac, J.N., Andreoletti, O., Bilheude, J.M., Lacroux, C., Benestad, S.L., Baron, T. (2007). Similar biochemical signatures and prion protein genotypes in atypical scrapie and Nor98 cases, France and Norway. *Emerging infectious diseases*, 13(1): 58–65. doi: 10.3201/eid1301.060393.
46. Asante, E.A., Linehan, J.M., Desbruslais, M., Joiner, S., Gowland, I., Wood, A. L., ... Collinge, J. (2002). BSE prions propagate as either variant CJD-like or sporadic CJD-like prion strains in transgenic mice expressing human

prion protein. *The EMBO journal*, 21(23): 6358–6366. doi: 10.1093/emboj/cdf653.

47. Asante, E.A., Smidak, M., Grimshaw, A., Houghton, R., Tomlinson, A., Jeelani, A., ... Collinge, J. (2015). A naturally occurring variant of the human prion protein completely prevents prion disease. *Nature*, 522(7557): 478–481. doi: 10.1038/nature14510.

48. Ascari, L.M., Rocha, S.C., Gonçalves, P.B., Vieira, T., & Cordeiro, Y. (2020). Challenges and Advances in Antemortem Diagnosis of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8: 585896. doi: 10.3389/fbioe.2020.585896.

49. Asher, D.M., Belay, E., Bigio, E., Brandner, S., Brubaker, S.A., Caughey, B., ... Frosch, M.P. (2020). Risk of Transmissibility From Neurodegenerative Disease-Associated Proteins: Experimental Knowns and Unknowns. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 79(11): 1141–1146. doi: 10.1093/jnen/nlaa109.

50. Asher, D.M., Gibbs, C.J., Jr, Gajdusek, D.C. (1976). Pathogenesis of subacute spongiform encephalopathies. *Annals of clinical and laboratory science*, 6(1): 84–103.

51. Atarashi, R., Moore, R.A., Sim, V.L., Hughson, A.G., Dorward, D.W., Onwubiko, H.A., Priola, S.A., Caughey, B. (2007). Ultrasensitive detection of scrapie prion protein using seeded conversion of recombinant prion protein. *Nature methods*, 4(8): 645–650. doi: 10.1038/nmeth1066.

52. Atarashi, R. (2009). Recent advances in cell-free PrPSc amplification technique. *Protein and peptide letters*, 16(3): 256–259. doi: 10.2174/092986609787601697.

53. Atarashi, R., Sano, K., Satoh, K., Nishida, N. (2011). Real-time quaking-induced conversion: a highly sensitive assay for prion detection. *Prion*, 5(3): 150–153. doi: 10.4161/pri.5.3.16893.

54. Atarashi, R., Wilham, J.M., Christensen, L., Hughson, A.G., Moore, R.A., Johnson, L.M., ... Caughey, B. (2008). Simplified ultrasensitive prion detection by recombinant PrP conversion with shaking. *Nature methods*, 5(3): 211–212. doi: 10.1038/nmeth0308-211.

55. Atkinson, C.J., Zhang, K., Munn, A.L., Wiegmans, A., Wei, M.Q. (2016). Prion protein scrapie and the normal cellular prion protein. *Prion*, 10(1): 63–82. doi: 10.1080/19336896.2015.1110293.

56. Aucouturier, P., Carnaud, C. (2002). The immune system and prion diseases: a relationship of complicity and blindness. *Journal of leukocyte biology*, 72(6): 1075–1083.

57. Avrahami, D., Gabizon, R. (2011). Age-related alterations affect the susceptibility of mice to prion infection. *Neurobiology of aging*, 32(11): 2006–2015. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2009.12.015.

58. Babelhadj, B. Camel Prion Disease: A Possible Emerging Disease in Dromedary Camel Populations? Available online: <https://oiebulletin.com/wp-content/uploads/2019/12/OIE-News-December-2019-Camel-prion-disease.pdf> (accessed on 21 January 2021).

59. Babelhadj, B., Di Bari, M.A., Pirisinu, L., Chiappini, B., Gaouar, S., Riccardi, G., ... Vaccari, G. (2018). Prion Disease in Dromedary Camels, Algeria. *Emerging infectious diseases*, 24(6): 1029–1036. doi: 10.3201/eid2406.172007.

60. Bach, S., Talarek, N., Andrieu, T., Vierfond, J.M., Mettey, Y., Galons, H., ... Blondel, M. (2003). Isolation of drugs active against mammalian prions using a yeast-based screening assay. *Nature biotechnology*, 21(9): 1075–1081. doi: 10.1038/nbt855.

61. Baeten, L.A., Powers, B.E., Jewell, J.E., Spraker, T.R., Miller, M.W. (2007). A natural case of chronic wasting disease in a free-ranging moose (*Alces alces shirasi*). *Journal of wildlife diseases*, 43(2): 309–314. doi: 10.7589/0090-3558-43.2.309.

62. Bailey, J.A., Barrowman, P.R., Bishop, K.J., Campbell, G.R., & Wood, J.M. (2003). Bovine spongiform encephalopathy. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 22(1): 37–60. doi: 10.20506/rst.22.1.1389.

63. Bainbridge, J., Walker, K. (2005) The normal cellular form of prion protein modulates T cell responses. *Immunol Lett.*, 96(1): 147–150. doi: 10.1016/j.imlet.2004.08.006.

64. Baker, H.F., Ridley, R.M., Wells, G.A. (1993). Experimental transmission of BSE and scrapie to the common marmoset. *The Veterinary record*, 132(16): 403–406. doi: 10.1136/vr.132.16.403.

65. Balachandran, A., Harrington, N.P., Algire, J., Soutyrine, A., Spraker, T.R., Jeffrey, M., González, L., O'Rourke, K.I. (2010) Experimental oral transmission of chronic wasting disease to red deer (*Cervus elaphus elaphus*): early detection and late stage distribution of protease-resistant prion protein. *Can Vet J.* 51(2): 169–178.

66. Balkema-Buschmann, A., Eiden, M., Hoffmann, C., Kaatz, M., Ziegler, U., Keller, M., Groschup, M.H. (2011). BSE infectivity in the absence of detectable PrP(Sc) accumulation in the tongue and nasal mucosa of terminally diseased cattle. *The Journal of general virology*, 92(2): 467–476. doi: 10.1099/vir.0.025387-0.

67. Balkema-Buschmann, A., Fast, C., Kaatz, M., Eiden, M., Ziegler, U., McIntyre, L., ... Groschup, M.H. (2011). Pathogenesis of classical and atypical BSE in cattle. *Preventive veterinary medicine*, 102(2): 112–117. doi: 10.1016/j.prevetmed.2011.04.006.

68. Balkema-Buschmann, A., Ziegler, U., McIntyre, L., Keller, M., Hoffmann, C., Rogers, R., Hills, B., Groschup, M.H. (2011). Experimental



challenge of cattle with German atypical bovine spongiform encephalopathy (BSE) isolates. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 74(2-4): 103–109. doi: 10.1080/15287394.2011.529060.

69. Bamborough, P., Wille, H., Telling, G.C., Yehiely, F., Prusiner, S.B., Cohen, F.E. (1996). Prion protein structure and scrapie replication: theoretical, spectroscopic, and genetic investigations. *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology*, 61: 495–509.

70. Bannach, O., Birkmann, E., Reinartz, E., Jaeger, K.E., Langeveld, J.P., Rohwer, R.G., ... Riesner, D. (2012). Detection of prion protein particles in blood plasma of scrapie infected sheep. *PLoS one*, 7(5): e36620. doi: 10.1371/journal.pone.0036620.

71. Bannach, O., Reinartz, E., Henke, F., Dreßen, F., Oelschlegel, A., Kaatz, M., ... Birkmann, E. (2013). Analysis of prion protein aggregates in blood and brain from pre-clinical and clinical BSE cases. *Veterinary microbiology*, 166(1–2): 102–108. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.05.021.

72. Barlow, R.M. (1972) Transmissible mink encephalopathy: pathogenesis and nature of the aetiological agent. *J Clin Pathol Suppl. (R Coll Pathol)*. 6: 102–109.

73. Barlow, R.M., Rennie, J.C. (1976). The fate of ME7 scrapie infection in rats, guinea-pigs and rabbits. *Research in veterinary science*, 21(1): 110–111.

74. Barlow, R.M., Rennie, J.C. (1970). Transmission experiments with a scrapie-like encephalopathy of mink. *Journal of comparative pathology*, 80(1): 75–79. doi: 10.1016/0021-9975(70)90033-2.

75. Baron, T.G., Biacabe, A.G. (2001). Molecular analysis of the abnormal prion protein during coinfection of mice by bovine spongiform encephalopathy and a scrapie agent. *Journal of virology*, 75(1): 107–114. doi: 10.1128/JVI.75.1.107-114.2001.

76. Barria, M.A., Telling, G.C., Gambetti, P., Mastrianni, J.A., Soto, C. (2011). Generation of a new form of human PrP(Sc) in vitro by interspecies transmission from cervid prions. *The Journal of biological chemistry*, 286(9): 7490–7495. doi: 10.1074/jbc.M110.198465.

77. Barria, M.A., Ironside, J.W., Head, M.W. (2014). Exploring the zoonotic potential of animal prion diseases: in vivo and in vitro approaches. *Prion*, 8(1): 85–91. doi: 10.4161/pri.28124.

78. Baron, T., Belli, P., Madec, J.Y., Moutou, F., Vitaud, C., Savey, M. (1997). Spongiform encephalopathy in an imported cheetah in France. *The Veterinary record*, 141(11), 270–271. doi: 10.1136/vr.141.11.270.

79. Baron, T., Bencsik, A., Biacabe, A.G., Morignat, E., Bessen, R.A. (2007). Phenotypic similarity of transmissible mink encephalopathy in cattle and L-type bovine spongiform encephalopathy in a mouse model. *Emerging infectious diseases*, 13(12): 1887–1894. doi: 10.3201/eid1312.070635.

80. Baron, T., Biacabe, A.G., Arsac, J.N., Benestad, S., Groschup, M.H. (2007). Atypical transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) in ruminants. *Vaccine*, 25(30): 5625–5630. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.10.058.
81. Baron, T., Calavas, D. (2005). L'encéphalopathie spongiforme bovine [Bovine spongiform encephalopathy]. *Pathologie-biologie*, 53(4): 229–236. doi: 10.1016/j.patbio.2004.09.009.
82. Baron, T. G., Madec, J. Y., & Calavas, D. (1999). Similar signature of the prion protein in natural sheep scrapie and bovine spongiform encephalopathy-linked diseases. *Journal of clinical microbiology*, 37(11), 3701–3704. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.11.3701-3704.1999>.
83. Baron, T., Vulin, J., Biacabe, A.G., Lakhdar, L., Verchere, J., Torres, J.M., Bencsik, A. (2011). Emergence of classical BSE strain properties during serial passages of H-BSE in wild-type mice. *PloS one*, 6(1): e15839. doi: 10.1371/journal.pone.0015839.
84. Barrett, A., Tagliavini, F., Forloni, G., Salmona, M., Colombo, L., Luigi, D., ... Deslys, J.P. (2003) Evaluation of quinacrine treatment for prion diseases. *J Virol.*, 77(15): 8462–8469. doi: 10.1128/JVI.77.15.8462-8469.2003.
85. Barron, R.M. (2014). Prion disease zoonosis: Assessing risk associated with new and emerging prion agents. *CAB Reviews*, 9: 1–10.
86. Bartz, J.C., McKenzie, D.I., Bessen, R.A., Marsh, R.F., Aiken, J.M. (1994). Transmissible mink encephalopathy species barrier effect between ferret and mink: PrP gene and protein analysis. *The Journal of general virology*, 75(11): 2947–2953. doi: 10.1099/0022-1317-75-11-2947.
87. Bartz, J.C., Bessen, R.A., McKenzie, D., Marsh, R.F., Aiken, J.M. (2000). Adaptation and selection of prion protein strain conformations following interspecies transmission of transmissible mink encephalopathy. *Journal of virology*, 74(12), 5542–5547. doi: 10.1128/jvi.74.12.5542-5547.2000.
88. BBC News. *Timeline: British Beef Ban* [http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk\\_news/4785610.stm#:~:text=MARCH%201996,live%20cattle%2C%20meat%20and%20products](http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/4785610.stm#:~:text=MARCH%201996,live%20cattle%2C%20meat%20and%20products) (2006).
89. Beauregard, P.B., Guerin, R., Senechal, P., Collin, P., Rokeach, L.A. (2005) In abstracts of PRION BIOLOGY – Joint Cold Spring Harbor Laboratory/Wellcome Trust Conference.
90. Beck, K.E., Thorne, L., Lockey, R., Vickery, C.M., Terry, L.A., Bujdoso, R., Spiropoulos, J. (2013). Strain typing of classical scrapie by transgenic mouse bioassay using protein misfolding cyclic amplification to replace primary passage. *PloS one*, 8(3): e57851. doi: 10.1371/journal.pone.0057851.
91. Becker, J., Walter, W., Yan, W., Craig, E.A. (1996). Functional interaction of cytosolic hsp70 and a DnaJ-related protein, Ydj1p, in protein translocation in vivo. *Molecular and cellular biology*, 16(8): 4378–4386. doi: 10.1128/MCB.16.8.4378.

92. Beecher, C. (June 1, 2015). Surprising' Discovery Made About Chronic Wasting Disease. Food Safety News. Retrieved 2016-04-08.
93. Beekes, M., Baldauf, E., Diringer, H. (1996). Sequential appearance and accumulation of pathognomonic markers in the central nervous system of hamsters orally infected with scrapie. *The Journal of general virology*, 77(8): 1925–1934. doi: 10.1099/0022-1317-77-8-1925.
94. Beekes, M., & McBride, P.A. (2000). Early accumulation of pathological PrP in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neuroscience letters*, 278(3): 181–184. doi: 10.1016/s0304-3940(99)00934-9.
95. Beekes, M., McBride, P.A. (2007). The spread of prions through the body in naturally acquired transmissible spongiform encephalopathies. *The FEBS journal*, 274(3): 588–605. doi: 10.1111/j.1742-4658.2007.05631.x.
96. Belay, E.D., Blase, J., Sehulster, L.M., Maddox, R.A., Schonberger, L.B. (2013). Management of neurosurgical instruments and patients exposed to Creutzfeldt-Jakob disease. *Infection control and hospital epidemiology*, 34(12): 1272–1280. doi: 10.1086/673986.
97. Belay, E.D., Maddox, R.A., Williams, E.S., Miller, M.W., Gambetti, P., Schonberger, L.B. (2004). Chronic wasting disease and potential transmission to humans. *Emerging infectious diseases*, 10(6): 977–984. doi: 10.3201/eid1006.031082.
98. Belay, E.D., Schonberger, L.B. (2005) The public health impact of prion diseases. *Annu Rev Public Health*, 26: 191–212. doi: 10.1146/annurev.publhealth.26.021304.144536.
99. Belay, E.D. (1999) Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Annu Rev Microbiol.*, 53: 283–314. doi: 10.1146/annurev.micro.53.1.283.
100. Bellinger-Kawahara, C.G., Kempner, E., Groth, D., Gabizon, R., Prusiner, S.B. (1988) Scrapie prion liposomes and rods exhibit target sizes of 55,000 Da. *Virology*, 164(2): 537–541. doi: 10.1016/0042-6822(88)90569-7.
101. Bellworthy, S.J., Dexter, G., Stack, M., Chaplin, M., Hawkins, S.A., Simmons, M.M., ... Hill, P. (2005). Natural transmission of BSE between sheep within an experimental flock. *The Veterinary record*, 157(7): 206. doi: 10.1136/vr.157.7.206.
102. Belongrade, M., Nicot, S., Béringue, V., Coste, J., Lehmann, S., Bougard, D. (2016). Rapid and Highly Sensitive Detection of Variant Creutzfeldt-Jakob Disease Abnormal Prion Protein on Steel Surfaces by Protein Misfolding Cyclic Amplification: Application to Prion Decontamination Studies. *PloS one*, 11(1): e0146833. doi: 10.1371/journal.pone.0146833.
103. Bencsik, A., Debeer, S., Petit, T., & Baron, T. (2009). Possible case of maternal transmission of feline spongiform encephalopathy in a captive cheetah. *PloS one*, 4(9): e6929. doi: 10.1371/journal.pone.0006929.

104. Benestad, S.L., Arsaç, J.N., Goldmann, W., Nöremark, M. (2008). Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Veterinary research*, 39(4): 19. doi: 10.1051/vetres:2007056.
105. Benestad, S.L. and Bratberg, B. (2006). Atypical scrapie-Nor98. In Prions in Humans and Animals, Eds. Hörnlimann, B., Riesner, D. and Kretschmar, H. Berlin: *De Gruyter*, pp: 630–634.
106. Benestad, S.L., Mitchell, G., Simmons, M., Ytrehus, B., Vikøren, T. (2016). First case of chronic wasting disease in Europe in a Norwegian free-ranging reindeer. *Veterinary research*, 47(1): 88. doi: 10.1186/s13567-016-0375-4.
107. Benestad, S.L., Sarradin, P., Thu, B., Schönheit, J., Tranulis, M.A., Bratberg, B. (2003). Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *The Veterinary record*, 153(7): 202–208. doi: 10.1136/vr.153.7.202.
108. Ben-Gedalya, T., Cohen, E. (2012). Quality control compartments coming of age. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 13(5): 635–642. doi: 10.1111/j.1600-0854.2012.01330.x.
109. Béringue, V., Andréoletti, O., Le Dur, A., Essalmani, R., Vilotte, J.L., Lacroux, C., ... Laude, H. (2007). A bovine prion acquires an epidemic bovine spongiform encephalopathy strain-like phenotype on interspecies transmission. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 27(26): 6965–6971. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0693-07.2007.
110. Béringue, V., Demoy, M., Lasmézas, C.I., Gouritin, B., Weingarten, C., Deslys, J.P., ... Dormont, D. (2000). Role of spleen macrophages in the clearance of scrapie agent early in pathogenesis. *The Journal of pathology*, 190(4): 495–502. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200003)190:4<495::AID-PATH535>3.0.CO;2-T.
111. Béringue, V., Herzog, L., Jaumain, E., Reine, F., Sibille, P., Le Dur, A., Vilotte, J.-L., Laude, H. (2012) Facilitated cross-species transmission of prions in extraneural tissue. *Science*, 335(6067): 472–475. doi: 10.1126/science.1215659.
112. Béringue, V., Herzog, L., Reine, F., Le Dur, A., Casalone, C., Vilotte, J.L., Laude, H. (2008). Transmission of atypical bovine prions to mice transgenic for human prion protein. *Emerging infectious diseases*, 14(12): 1898–1901. doi: 10.3201/eid1412.080941.
113. Béringue, V., Vilotte, J. L., & Laude, H. (2008). Prion agent diversity and species barrier. *Veterinary research*, 39(4): 47. doi: 10.1051/vetres:2008024.
114. Berg L.J. (1994). Insights into the role of the immune system in prion diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(2): 429–432. doi: 10.1073/pnas.91.2.429
115. Bessen, R.A., Marsh, R.F. (1992). Biochemical and physical properties of the prion protein from two strains of the transmissible mink

encephalopathy agent. *Journal of virology*, 66(4): 2096–2101. doi: 10.1128/JVI.66.4.2096-2101.1992.

116. Bessen, R.A., Marsh, R.F. (1994). Distinct PrP properties suggest the molecular basis of strain variation in transmissible mink encephalopathy. *Journal of virology*, 68(12): 7859–7868. doi: 10.1128/JVI.68.12.7859-7868.1994.

117. Bessen, R.A., Kocisko, D.A., Raymond, G.J., Nandan, S., Lansbury, P.T., Caughey, B. (1995). Non-genetic propagation of strain-specific properties of scrapie prion protein. *Nature*, 375(6533): 698–700. doi: 10.1038/375698a0.

118. Bessen, R.A., & Marsh, R.F. (1992). Identification of two biologically distinct strains of transmissible mink encephalopathy in hamsters. *The Journal of general virology*, 73 (2): 329–334. doi: 10.1099/0022-1317-73-2-329.

119. Biacabe, A.G., Laplanche, J.L., Ryder, S., Baron, T. (2004). Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *EMBO reports*, 5(1): 110–115. doi: 10.1038/sj.embor.7400054.

120. Biasini, E., Seegulam, M.E., Patti, B.N., Solforosi, L., Medrano, A.Z., Christensen, H.M., ... Harris, D.A. (2008). Non-infectious aggregates of the prion protein react with several PrP<sup>Sc</sup>-directed antibodies. *Journal of neurochemistry*, 105(6): 2190–2204. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05306.x.

121. Bizzi, A., Pascuzzo, R., Blevins, J., Grisoli, M., Lodi, R., Moscatelli, M.E.M., ... Gambetti, P. (2020) Evaluation of a New Criterion for Detecting Prion Disease With Diffusion Magnetic Resonance Imaging. *JAMA Neurol.*, 77(9): 1141–1149. doi: 10.1001/jamaneurol.2020.1319.

122. Blanquet-Grossard, F., Thielens, N.M., Vendrely, C., Jamin, M., & Arlaud, G.J. (2005). Complement protein C1q recognizes a conformationally modified form of the prion protein. *Biochemistry*, 44(11): 4349–4356. doi: 10.1021/bi047370a.

123. Blättler, T., Brandner, S., Raeber, A.J., Klein, M.A., Voigtländer, T., Weissmann, C., Aguzzi, A. (1997) PrP-expressing tissue required for transfer of scrapie infectivity from spleen to brain. *Nature*, 389(6646): 69–73. doi: 10.1038/37981.

124. Bolton, D.C., Bendheim, P.E. (1991). Purification of scrapie agents: how far have we come?. *Current topics in microbiology and immunology*, 172: 39–55. doi: 10.1007/978-3-642-76540-7\_3.

125. Bolton, D.C., McKinley, M.P., Prusiner, S.B. (1982) Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science*, 218(4579): 1309–1311. doi: 10.1126/science.6815801.

126. Bonda, D.J., Manjila, S., Mehndiratta, P., Khan, F., Miller, B.R., Onwuzulike, K., ... Cali, I. (2016). Human prion diseases: surgical lessons learned from iatrogenic prion transmission. *Neurosurgical focus*, 41(1): E10. doi: 10.3171/2016.5.FOCUS15126.

127. Bons, N., Lehmann, S., Nishida, N., Mestre-Frances, N., Dormont, D., Belli, P., ... Brown, P. (2002). BSE infection of the small short-lived primate *Microcebus murinus*. *Comptes rendus biologiques*, 325(1): 67–74. doi: 10.1016/s1631-0691(02)01390-2.
128. Borchelt, D.R., Taraboulos, A., Prusiner, S.B. (1992). Evidence for synthesis of scrapie prion proteins in the endocytic pathway. *The Journal of biological chemistry*, 267(23): 16188–16199.
129. Boroznyak, R.V. (2012) Geometriya belkovyih tel. *Himiya i zhizn*, 5: 8–12.
130. Boujon, C., Serra, F., Seuberlich, T. (2016). Atypische Varianten boviner spongiformer Enzephalopathie: seltene Krankheiten mit Konsequenzen für die BSE-Überwachung und -Bekämpfung. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 158(3): 171–177. doi: 10.17236/sat00053.
131. Bounhar, Y., Zhang, Y., Goodyer, C. G., & LeBlanc, A. (2001). Prion protein protects human neurons against Bax-mediated apoptosis. *The Journal of biological chemistry*, 276(42): 39145–39149. doi: 10.1074/jbc.C100443200.
132. Bozzetta, E., Nappi, R., Crudeli, S., Meloni, D., Varello, K., Loprevite, D., ... Ligios, C. (2011). Comparative performance of three TSE rapid tests for surveillance in healthy sheep affected by scrapie. *Journal of virological methods*, 173(2): 161–168. doi: 10.1016/j.jviromet.2011.01.008.
133. Bradford, B.M., Reizis, B., & Mabbott, N.A. (2017). Oral Prion Disease Pathogenesis Is Impeded in the Specific Absence of CXCR5-Expressing Dendritic Cells. *Journal of virology*, 91(10): e00124-17. doi: 10.1128/JVI.00124-17.
134. Bradley R. (2002). Bovine spongiform encephalopathy. Update. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 62(3), 183–195.
135. Bradley, M.E., Edskes, H.K., Hong, J.Y., Wickner, R.B., Liebman, S.W. (2002). Interactions among prions and prion “strains” in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(4): 16392–16399. doi: 10.1073/pnas.152330699.
136. Bradley, M.E., Liebman, S.W. (2004). The Sup35 domains required for maintenance of weak, strong or undifferentiated yeast [PSI+] prions. *Molecular microbiology*, 51(6), 1649–1659. doi: 10.1111/j.1365-2958.2003.03955.x.
137. Bradley, R., & Wilesmith, J.W. (1993). Epidemiology and control of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *British medical bulletin*, 49(4): 932–959. doi: 10.1093/oxfordjournals.bmb.a072654.
138. Bradshaw, J.M., Pearson, G.R., Gruffydd-Jones, T.J. (2004). A retrospective study of 286 cases of neurological disorders of the cat. *Journal of comparative pathology*, 131(2–3): 112–120. doi: 10.1016/j.jcpa.2004.01.010.
139. Brandner, S., Isenmann, S., Raeber, A., Fischer, M., Sailer, A., Kobayashi, ... Aguzzi, A. (1996) Normal host prion protein necessary for

scrapie-induced neurotoxicity. *Nature*, 379(6563): 339–343. doi: 10.1038/379339a0.

140. Brandner, S., Whitfield, J., Boone, K., Puwa, A., O'Malley, C., Linehan, J. M., ... Collinge, J. (2008). Central and peripheral pathology of kuru: pathological analysis of a recent case and comparison with other forms of human prion disease. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363(1510): 3755–3763. doi: 10.1098/rstb.2008.0091.

141. Brandt, A.L., Kelly, A.C., Green, M.L., Shelton, P., Novakofski, J., Mateus-Pinilla, N.E. (2015). Prion protein gene sequence and chronic wasting disease susceptibility in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Prion*, 9(6): 449–462. doi: 10.1080/19336896.2015.1115179.

142. Braun, U., Schicker, E., Pusterla, N., Schönmann, M. (1998). Klinische Befunde bei 50 Kühen mit boviner spongiformer Enzephalopathie (BSE) [Clinical findings in 50 cows with bovine spongiform encephalopathy (BSE)]. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, 111(1): 27–32.

143. Bremer, J., Baumann, F., Tiberi, C., Wessig, C., Fischer, H., Schwarz, P., ... Aguzzi, A. (2010). Axonal prion protein is required for peripheral myelin maintenance. *Nature neuroscience*, 13(3): 310–318. doi: 10.1038/nn.2483.

144. Brown, D.R., Hafiz, F., Glasssmith, L.L., Wong, B.S., Jones, I.M., Clive, C., Haswell, S.J. (2000). Consequences of manganese replacement of copper for prion protein function and proteinase resistance. *The EMBO journal*, 19(6): 1180–1186. doi: 10.1093/emboj/19.6.1180.

145. Brown, D.R., Qin, K., Herms, J.W., Madlung, A., Manson, J., Strome, R., ... Kretzschmar, H. (1997). The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature*, 390(6661): 684–687. doi: 10.1038/37783.

146. Browning, S., Baker, C.A., Smith, E., Mahal, S.P., Herva, M.E., Cheryl, A., ... Weissmann, C. (2011) Abrogation of complex glycosylation by Swainsonine results in strain- and cell-specific inhibition of prion replication. *J Biol Chem.*, 286(47): 40962–40973. doi: 10.1074/jbc.M111.283978.

147. Brown J.C., Lindquist S.L. (2005) In abstracts of PRION BIOLOGY – Joint Cold Spring Harbor Laboratory/Wellcome Trust Conference.

148. Brown, K.L., Mabbott, N.A. (2014). Evidence of subclinical prion disease in aged mice following exposure to bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of general virology*, 95(1): 231–243. doi: 10.1099/vir.0.058958-0.

149. Brown, K.L., Wathne, G.J., Sales, J., Bruce, M.E., Mabbott, N.A. (2009). The effects of host age on follicular dendritic cell status dramatically impair scrapie agent neuroinvasion in aged mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 183(8): 5199–5207. doi: 10.4049/jimmunol.0802695.

150. Brown, P. (2001) Afterthoughts about bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Emerg Infect Dis.*, 7(3): 598–600. doi: 10.3201/eid0707.010744.

151. Brown, P., Bradley, R. (1998). 1755 and all that: a historical primer of transmissible spongiform encephalopathy. *BMJ (Clinical research ed.)*, 317(7174): 1688–1692. doi: 10.1136/bmj.317.7174.1688.
152. Brown, P., Brandel, J.P., Sato, T., Nakamura, Y., MacKenzie, J., Will, R.G., ... Schonberger, L.B. (2012). Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease, final assessment. *Emerging infectious diseases*, 18(6): 901–907. doi: 10.3201/eid1806.120116.
153. Brown, P. (2007) Creutzfeldt-Jakob disease: reflections on the risk from blood product therapy. *Haemophilia*, 13(5): 33–40. doi: 10.1111/j.1365-2516.2007.01572.x.
154. Brown, P., Gajdusek, D.C. (1991). Survival of scrapie virus after 3 years' interment. *Lancet (London, England)*, 337(8736): 269–270. doi: 10.1016/0140-6736(91)90873-n.
155. Brown, P., Gajdusek, D.C. (1991) The human spongiform encephalopathies: kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and the Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome. *Curr Top Microbiol Immunol.*, 172: 1–20. doi: 10.1007/978-3-642-76540-7\_1.
156. Brown, P., Farrell, M. (2015) A new practical diagnostic test for Creutzfeldt-Jakob disease. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 36(7): 849. doi: 10.1017/ice.2015.109.
157. Brown, P., Farrell, M. (2015) A practical approach to avoiding iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) from invasive instruments. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 36(7): 844–848. doi: 10.1017/ice.2015.53.
158. Brown, P., McShane, L.M., Zanusso, G., Detwile, L. (2006). On the question of sporadic or atypical bovine spongiform encephalopathy and Creutzfeldt-Jakob disease. *Emerging infectious diseases*, 12(12): 1816–1821. doi: 10.3201/eid1212.060965.
159. Brown, P., Preece, M., Brandel, J.P., Sato, T., McShane, L., Zerr, I., ...S J Collins, S.J. (2000) Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millennium. *Neurology*, 55(8): 1075–1081. doi: 10.1212/wnl.55.8.1075.
160. Brown, P., Preece, M.A., & Will, R.G. (1992). “Friendly fire” in medicine: hormones, homografts, and Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet (London, England)*, 340(8810): 24–27. doi: 10.1016/0140-6736(92)92431-e.
161. Brown, P., Rau, E.H., Johnson, B.K., Bacote, A.E., Gibbs, C.J., Jr, Gajdusek, D.C. (2000). New studies on the heat resistance of hamster-adapted scrapie agent: threshold survival after ashing at 600 degrees C suggests an inorganic template of replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(7): 3418–3421. doi: 10.1073/pnas.050566797.
162. Brown, P. (2008) Transmissible spongiform encephalopathy in the 21st century: neuroscience for the clinical neurologist. *Neurology*, 70: 713–722. doi: 10.1212/01.wnl.0000302186.10596.f6.



163. Brown, P. (2013) Transmissible spongiform encephalopathy: from its beginnings to Daniel Carlton Gajdusek. In *Prions and Diseases: Volume 1, Physiology and Pathophysiology* (W.-Q. Zou and P. Gambetti (eds.). *New York: Springer Science+Business Media*, 1–19.
164. Brown, P., Will, R.G., Bradley, R., Asher, D.M., Detwiler, L. (2001) Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: background, evolution, and current concerns. *Emerg Infect Dis.*, 7(1): 6–16. doi: 10.3201/eid0701.010102.
165. Bruce, M., Chree, A., McConnell, I., Foster, J., Pearson, G., and Fraser, H. (1994) Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 343(1306): 405–411. doi: 10.1098/rstb.1994.0036.
166. Bruce, M.E., Will, R.G., Ironside, J.W., McConnell, I., Drummond, D., Suttie, A., ... Bostock, C.J. (1997). Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature*, 389(6650): 498–501. doi: 10.1038/39057.
167. Budka, H., Aguzzi, A., Brown, P., Brucher, J.-M., Bugiani, O., Gulotta, F., ... Weller, R.O. (1995) Neuropathological diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) and other human spongiform encephalopathies (prion diseases). *Brain Pathol.* 1995; 5(4): 459–466. doi: 10.1111/j.1750-3639.1995.tb00625.x.
168. Büeler, H., Aguzzi, A., Sailer, A., Greiner, R.A., Autenried, P., Aguet, M., Weissmann, C. (1993) Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell*, 73(7):1339–1347. doi: 10.1016/0092-8674(93)90360-3.
169. Büeler, H., Fischer, M., Lang, Y., Bluethmann, H., Lipp, H. P., DeArmond, S.J., ... Weissmann, C. (1992) Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature*, 356(6370): 577–582. doi: 10.1038/356577a0.
170. Büeler, H., Raeber, A., Sailer, A., Fischer, M., Aguzzi, A., Weissmann, C. (1994). High prion and PrP<sup>Sc</sup> levels but delayed onset of disease in scrapie-inoculated mice heterozygous for a disrupted PrP gene. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 1(1): 19–30.
171. Bugiani, O., Giaccone, G., Piccardo, P., Morbin, M., Tagliavini, F., & Ghetti, B. (2000). Neuropathology of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Microscopy research and technique*, 50(1): 10–15. doi: 10.1002/1097-0029(20000701)50:1<10::AID-JEMT3>3.0.CO;2-6.
172. Bulgin M.S. Overview of scrapie. Kahn CM, Line S, Aiello SE, editors. *The Merck veterinary manual* [online]. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co; 2013. Scrapie. Available at: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous\\_system/scrapie/overview\\_of\\_scrapie.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous_system/scrapie/overview_of_scrapie.html). Accessed 30 Aug 2016.

173. Buschmann, A., Biacabe, A.G., Ziegler, U., Bencsik, A., Madec, J.Y., Erhardt, G., ... Groschup, M.H. (2004). Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. *Journal of virological methods*, 117(1): 27–36. doi: 10.1016/j.jviromet.2003.11.017.

174. Buschmann, A., Gretzschel, A., Biacabe, A.G., Schiebel, K., Corona, C., Hoffmann, C., ... Groschup, M.H. (2006). Atypical BSE in Germany--proof of transmissibility and biochemical characterization. *Veterinary microbiology*, 117(2-4), 103–116. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.06.016.

175. Buschmann, A., Lühken, G., Schultz, J., Erhardt, G., Groschup, M. H. (2004). Neuronal accumulation of abnormal prion protein in sheep carrying a scrapie-resistant genotype (PrPARR/ARR). *The Journal of general virology*, 85(9): 2727–2733. doi: 10.1099/vir.0.79997-0.

176. Cali, I., Castellani, R., Alsheklee, A., Cohen, Y., Blevins, J., Yuan, J., ... Gambetti, P. (2009). Co-existence of scrapie prion protein types 1 and 2 in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: its effect on the phenotype and prion-type characteristics. *Brain : a journal of neurology*, 132(10): 2643–2658. doi: 10.1093/brain/awp196.

177. Cali, I., Cohen, M.L., Haik, S., Parchi, P., Giaccone, G., Collins, S.J., ... Gambetti, P. (2018) Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease with amyloid-β pathology: An international study. *Acta Neuropathol Commun* 6(1):5, 2018. doi: 10.1186/s40478-017-0503-z.

178. Camel|Bactrian,Dromedary,&Facts.Availableonline:<https://www.britannica.com/animal/camel> (accessed on 29 January 2021).

179. Canadian Food Inspection Agency (2016). Chronic Wasting Disease (CWD) of Deer and Elk. Retrieved from <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial-animals/diseases/reportable/cwd/eng/1330143462380/1330143991594> (accessed on 06/09/2016).

180. Canadian Food Inspection Agency. *Accredited Veterinarian's Manual*; Canadian Food Inspection Agency: Ottawa, ON, Canada, 2017.

181. Canadian Food Inspection Agency <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrial/animals/diseases/reportable/bse/eng/1323991831668/1323991912972>.

182. Canadian Food Inspection Agency (CFIA). Enhanced Animal health protection from BSE – specified risk material (SRM). CFIA; 2015 Apr. Available at: <http://www.inspection.gc.ca/animals/terrestrialanimals/diseases/reportable/bse/srm/eng/1299870250278/1334278201780>. Accessed 28 Aug 2016.

183. Cao, L., Feng, H., Huang, X., Yi, J., & Zhou, Y. (2021). Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome misdiagnosed as cervical spondylotic myelopathy: A case report with 5-year follow-up. *Medicine*, 100(16): e25687. doi: 10.1097/MD.00000000000025687.

184. Capellari, S., Strammiello, R., Saverioni, D., Kretzschmar, H., & Parchi, P. (2011). Genetic Creutzfeldt-Jakob disease and fatal familial insomnia: insights into phenotypic variability and disease pathogenesis. *Acta neuropathologica*, 121(1): 21–37. doi: 10.1007/s00401-010-0760-4.
185. Carmona, P., Monzón, M., Monleón, E., Badiola, J.J., Monreal, J. (2005). In vivo detection of scrapie cases from blood by infrared spectroscopy. *The Journal of general virology*, 86(12), 3425–3431. doi: 10.1099/vir.0.81097-0.
186. Carp, R.I., Meeker, H., Sersen, E. (1997). Scrapie strains retain their distinctive characteristics following passages of homogenates from different brain regions and spleen. *The Journal of general virology*, 78(1): 283–290. doi: 10.1099/0022-1317-78-1-283.
187. Cartoni, C., Schininà, M.E., Maras, B., Nonno, R., Vaccari, G., Di Bari, M., ... Agrimi, U. (2007). Quantitative profiling of the pathological prion protein allotypes in bank voles by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 849(1–2): 302–306. doi: 10.1016/j.jchromb.2006.08.016.
188. Carroll A. (2010) Australian Chief Veterinary Officer. Animal Health Surveillance Quarterly Report 1 January to 31 March. [www.animalhealthaustralia.com.au/nahis](http://www.animalhealthaustralia.com.au/nahis). 2010.
189. Casalone, C., Zanusso, G., Acutis, P., Ferrari, S., Capucci, L., Tagliavini, F., Monaco, S., Caramelli, M. (2004). Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9): 3065–3070. doi: 10.1073/pnas.0305777101.
190. Cassard, H., Torres, J.M., Lacroux, C., Douet, J.Y., Benestad, S.L., Lantier, F., ... Andréoletti, O. (2014). Evidence for zoonotic potential of ovine scrapie prions. *Nature communications*, 5: 5821. doi: 10.1038/ncomms6821.
191. Cassmann, E.D., & Greenlee, J.J. (2020). Pathogenesis, detection, and control of scrapie in sheep. *American journal of veterinary research*, 81(7): 600–614. doi: 10.2460/ajvr.81.7.600.
192. Castilla, J., Gonzalez-Romero, D., Saá, P., Morales, R., De Castro, J., Soto, C. (2008). Crossing the species barrier by PrP(Sc) replication in vitro generates unique infectious prions. *Cell*, 134(5): 757–768. doi: 10.1016/j.cell.2008.07.030.
193. Castilla, J., Morales, R., Saá, P., Barria, M., Gambetti, P., Soto, C. (2008). Cell-free propagation of prion strains. *The EMBO journal*, 27(19): 2557–2566. doi: 10.1038/emboj.2008.181.
194. Castilla, J., Saá, P., Hetz, C., Soto, C. (2005). In vitro generation of infectious scrapie prions. *Cell*, 121(2): 195–206. doi: 10.1016/j.cell.2005.02.011.
195. Castilla, J., Saá, P., Morales, R., Abid, K., Maundrell, K., Soto, C. (2006). Protein misfolding cyclic amplification for diagnosis and prion

propagation studies. *Methods in enzymology*, 412: 3–21. doi: 10.1016/S0076-6879(06)12001-7.

196. Castle, A.R., Gill, A.C. (2017). Physiological Functions of the Cellular Prion Protein. *Frontiers in molecular biosciences*, 4: 19. doi: 10.3389/fmolb.2017.00019.

197. Caughey, B., Kocisko, D.A., Raymond, G.J., Lansbury, P.T., Jr. (1995) Aggregates of scrapie-associated prion protein induce the cell-free conversion of protease-sensitive prion protein to the protease-resistant state. *Chem. Biol.*, 2(12): 807–817. doi: 10.1016/1074-5521(95)90087-x.

198. Caughey, B., Raymond, G.J., Bessen, R.A. (1998). Strain-dependent differences in beta-sheet conformations of abnormal prion protein. *The Journal of biological chemistry*, 273(48): 32230–32235. doi: 10.1074/jbc.273.48.32230.

199. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) or mad cow disease [website online]. CDC; 2015 Feb. Available at: <http://www.cdc.gov/prions/bse/index.html>. Accessed 26 Aug 2016.

200. Centers for Disease Control and Prevention. *Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE), or Mad Cow Disease. Control Measures* <https://www.cdc.gov/prions/bse/control-measures.html> (2018).

201. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chronic wasting disease [online]. CDC; 2007 Jan. Available at: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/cwd/>. \* Accessed 19 Sept. 2008.

202. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2016). Chronic Wasting Disease (CWD). Retrieved from <http://www.cdc.gov/prions/cwd/index.html> (accessed on 06/09/2016).

203. Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. Variant Creutzfeldt-Jakob disease [website online]. CDC; 2015 Feb. Available at: <http://www.cdc.gov/prions/vcjd/index.html>. Accessed 28 Aug 2016.

204. Centers for Disease Control and Prevention <http://www.cdc.gov/prions/bse/index.html>

205. Chakrabortee, S., Byers, J.S., Jones, S., Garcia, D.M., Bhullar, B., Chang, A., ... Jarosz, D.F. (2016). Intrinsically Disordered Proteins Drive Emergence and Inheritance of Biological Traits. *Cell*, 167(2): 369–381. doi: 10.1016/j.cell.2016.09.017.

206. Chandler, R.L. (1961) Encephalopathy in mice produced by inoculation with scrapie brain material. *Lancet (London, England)*, 1(7191): 1378–1379. doi: 10.1016/s0140-6736(61)92008-6.

207. Chen, C., & Dong, X.P. (2016). Epidemiological characteristics of human prion diseases. *Infectious diseases of poverty*, 5(1): 47. doi: 10.1186/s40249-016-0143-8.

208. Chernoff, Y.O., Lindquist, S.L., Ono, B., Inge-Vechtomov, S.G., & Liebman, S. W. (1995). Role of the chaperone protein Hsp104 in propagation of

the yeast prion-like factor [psi+]. *Science (New York, N.Y.)*, 268(5212): 880–884. doi: 10.1126/science.7754373.

209. Chernoff, Y.O., Newnam, G.P., Kumar, J., Allen, K., Zink, A.D. (1999). Evidence for a protein mutator in yeast: role of the Hsp70-related chaperone ssb in formation, stability, and toxicity of the [PSI] prion. *Molecular and cellular biology*, 19(12), 8103–8112. doi: 10.1128/MCB.19.12.8103.

210. Chesebro, B., Race, R., Wehrly, K., Nishio, J., Bloom, M., Lechner, D., ... Keith, J.M. (1985) Identification of scrapie prion protein-specific mRNA in scrapie-infected and uninfected brain. *Nature*, 315(6017): 331–333. doi: 10.1038/315331a0.

211. Chianini, F., Cosseddu, G. M., Steele, P., Hamilton, S., Hawthorn, J., Siso, S., ... Nonno, R. (2015). Correlation between infectivity and disease associated prion protein in the nervous system and selected edible tissues of naturally affected scrapie sheep. *PLoS one*, 10(3): e0122785. doi: 10.1371/journal.pone.0122785.

212. Chianini, F., Fernández-Borges, N., Vidal, E., Gibbard, L., Pintado, B., de Castro, J., ... Castilla, J. (2012). Rabbits are not resistant to prion infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(13): 5080–5085. doi: 10.1073/pnas.1120076109.

213. Chiarini, L.B., Freitas, A.R., Zanata, S.M., Brentani, R.R., Martins, V.R., Linden, R. (2002) Cellular prion protein transduces neuroprotective signals. *Embo J.*, 21(13): 3317–3326. doi: org/10.1093/emboj/cdf324.

214. Chimon, S., Shaibat, M.A., Jones, C.R., Calero, D.C., Aizezi, B., Ishii, Y. (2007). Evidence of fibril-like  $\beta$ -sheet structures in a neurotoxic amyloid intermediate of Alzheimer's  $\beta$ -amyloid. *Nat Struct Mol Biol.*, 14(12): 1157–1164. doi: 10.1038/nsmb1345.

215. Chiti, F., Stefani, M., Taddei, N., Ramponi, G., Dobson, C.M. (2003). Rationalization of the effects of mutations on peptide and protein aggregation rates. *Nature*, 424(6950): 805–808. doi: 10.1038/nature01891.

216. Choi, Y.P., Peden, A.H., Gröner, A., Ironside, J.W., Head, M.W. (2010). Distinct stability states of disease-associated human prion protein identified by conformation-dependent immunoassay. *Journal of virology*, 84(22): 12030–12038. doi: 10.1128/JVI.01057-10.

217. Chronic Wasting Disease Alliance. Carcass transportation regulations in the United States and Canada [online]. Available at: [http://www.cwd-info.org/index.php/fuseaction/policy.main.\\*](http://www.cwd-info.org/index.php/fuseaction/policy.main.*) Accessed 19 Sept 2008.

218. Chronic Wasting Disease Alliance. Chronic wasting disease (CWD) outbreaks and surveillance program in the Republic of Korea. 2011. Available at: <http://cwd-info.org/chronic-wasting-disease-cwd-outbreaks-and-surveillance-program-in-the-republic-of-korea/>. Accessed 28 July 2016.

219. Chronic Wasting Disease Alliance. The first detection of chronic wasting disease (CWD) in Europe. 2016. Available at: <http://cwd-info.org/>

the-first-detection-of-chronic-wasting-disease-cwd-in-europe/. Accessed 29 Jul 2016.

220. *Chronic Wasting Disease Program Standards*; United States Department of Agriculture: Ames, IA, USA, 2014.

221. Chugunov, A. (2007) Altsgeymerovskiy neyrotoksin: yadovityi ne tolko fibrillyi. Yandex. Zdorove. Prilozhenie i sayt dlya onlayn-konsultatsiy s vrachami. health.yandex.ru, 07.12.07.

222. Clarke, A.R., Jackson, G.S., Collinge, J. (2001) The molecular biology of prion propagation. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 356(1406): 185–195. doi: 10.1098/rstb.2000.0764.

223. Cobb, N.J., Apostol, M.I., Chen, S., Smirnovas, V., Surewicz, W.K. (2014). Conformational stability of mammalian prion protein amyloid fibrils is dictated by a packing polymorphism within the core region. *The Journal of biological chemistry*, 289(5): 2643–2650. doi: 10.1074/jbc.M113.520718.

224. Cohen, F.E., Prusiner, S.B. (1998). Pathologic conformations of prion proteins. *Annual review of biochemistry*, 67: 793–819. doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.793.

225. Colby, D.W., Prusiner, S.B. (2011). Prions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(1), a006833. doi: 10.1101/cshperspect.a006833.

226. Colchester, A.C., Colchester, N.T. (2005). The origin of bovine spongiform encephalopathy: the human prion disease hypothesis. *Lancet (London, England)*, 366(9488): 856–861. doi: 10.1016/S0140-6736(05)67218-2.

227. Collie, D.A., Summers, D.M., Sellar, R.J., Ironside, J.W., Cooper, S., Zeidler, M., Knight, R., & Will, R.G. (2003). Diagnosing variant Creutzfeldt-Jakob disease with the pulvinar sign: MR imaging findings in 86 neuropathologically confirmed cases. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 24(8): 1560–1569.

228. Collinge, J., Clarke, A.R. (2007). A general model of prion strains and their pathogenicity. *Science (New York, N.Y.)*, 318(5852): 930–936. doi: 10.1126/science.1138718.

229. Collinge, J. (2010) Medicine. Prion strain mutation and selection. *Science*, 328(5982):1111–1112. doi: 10.1126/science.1190815.

230. Collinge, J., Palmer, M.S., Sidle, K.C., Hill, A.F., Gowland, I., Meads, J., ... Lantos, P.L. (1995). Unaltered susceptibility to BSE in transgenic mice expressing human prion protein. *Nature*, 378(6559): 779–783. doi: 10.1038/378779a0.

231. Collinge, J., Palmer, M.S., Sidle, K.C., Gowland, I., Medori, R., Ironside, J., Lantos, P. (1995) Transmission of fatal familial insomnia to laboratory animals. *Lancet*, 346(8974): 569–570. doi: 10.1016/s0140-6736(95)91405-6.

232. Collinge, J. (2001). Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annual review of neuroscience*, 24: 519–550. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.519.
233. Collinge, J., Sidle, K.C., Meads, J., Ironside, J., Hill, A.F. (1996) Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature*, 383(6602): 685–690. doi: 10.1038/383685a0.
234. Collinge, J., Whitfield, J., McKintosh, E., Beck, J., Mead, S., Thomas, D.J., & Alpers, M.P. (2006). Kuru in the 21st century--an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet (London, England)*, 367(9528): 2068–2074. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68930-7.
235. Collinge, J., Whitfield, J., McKintosh, E., Frosh, A., Mead, S., Hill, A. F., ... Alpers, M. P. (2008). A clinical study of kuru patients with long incubation periods at the end of the epidemic in Papua New Guinea. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363(1510): 3725–3739. doi: 10.1098/rstb.2008.0068.
236. Collinge, J., Whittinton, M., Sidle, K., Smith, C., Palmer, M. Clarke, Jeffers, J. (1994) Prion Protein is necessary for normal synaptic function. *Nature*, 370: 295–297. doi: 10.1038/370295a0.
237. Collin, P., Beaugard, P.B., Elagoz, A., Rokeach, L.A. (2004) A non-chromosomal factor allows viability of *Schizosaccharomyces pombe* lacking the essential chaperone calnexin. *J. Cell Sci.*, 117(6): 907–918. doi: 10.1242/jcs.00943.
238. Collins, S., McLean, C.A., Masters, C.L. (2001). Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome, fatal familial insomnia, and kuru: a review of these less common human transmissible spongiform encephalopathies. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 8(5): 387–397. doi: 10.1054/jocn.2001.0919.
239. Collins, S.J., Lawson, V.A., Masters, C.L. (2004) Transmissible spongiform encephalopathies. *Lancet*, 363(9402): 51–61. doi: 10.1016/S0140-6736(03)15171-9.
240. Colorado Division of Wildlife. Chronic wasting disease in Colorado, 2006–2008. Colorado Division of Wildlife Report. Fort Collins, Colorado; 2009. 5 p.
241. Colussi, S., Vaccari, G., Maurella, C., Bona, C., Lorenzetti, R., Troiano, P., ... Acutis, P.L. (2008). Histidine at codon 154 of the prion protein gene is a risk factor for Nor98 scrapie in goats. *The Journal of general virology*, 89(12): 3173–3176. doi: 10.1099/vir.0.2008/004150-0.
242. Comoy, E.E., Casalone, C., Lescoutra-Etcheagaray, N., Zanusso, G., Freire, S., Marcé, D., ... Deslys, J.P. (2008). Atypical BSE (BASE) transmitted from asymptomatic aging cattle to a primate. *PLoS one*, 3(8): e3017. doi: 10.1371/journal.pone.0003017.

243. Comoy, E.E., Mikol, J., Ruchoux, M.M., Durand, V., Luccantoni-Freire, S., Dehen, C., ... Deslys, J.P. (2013). Evaluation of the zoonotic potential of transmissible mink encephalopathy. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 2(3): 520–532. doi: 10.3390/pathogens2030520.
244. Comoy, E.E., Mikol, J., Luccantoni-Freire, S., Correia, E., Lescoutra-Etchegaray, N., Durand, V., ... Deslys, J. P. (2015). Transmission of scrapie prions to primate after an extended silent incubation period. *Scientific reports*, 5: 11573. doi: 10.1038/srep11573.
245. Costassa, E.V., Iulini, B., Mazza, M., Acutis, P., Maurella, C., Meloni, D., ... Casalone, C. (2016). Pathogenesis and Transmission of Classical and Atypical BSE in Cattle. *Food safety (Tokyo, Japan)*, 4(4): 130–134. doi: 10.14252/foodsafetyfscj.2016018.
246. Corbière, F., Perrin-Chauvineau, C., Lacroux, C., Costes, P., Thomas, M., Brémaud, I., ... Andreoletti, O. (2013). PrP-associated resistance to scrapie in five highly infected goat herds. *The Journal of general virology*, 94(1): 241–245. doi: 10.1099/vir.0.047225-0.
247. Corona, C., Vallino Costassa, E., Iulini, B., Caramelli, M., Bozzetta, E., Mazza, M., Desiato, R., Ru, G., & Casalone, C. (2017). Phenotypical Variability in Bovine Spongiform Encephalopathy: Epidemiology, Pathogenesis, and Diagnosis of Classical and Atypical Forms. *Progress in molecular biology and translational science*, 150, 241–265. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.06.015.
248. Cortelli, P., Fabbri, M., Calandra-Buonaura, G., Capellari, S., Tinuper, P., Parchi, P., & Lugaresi, E. (2014). Gait disorders in fatal familial insomnia. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 29(3): 420–424. doi: 10.1002/mds.25786.
249. Cortelli, P., Parchi, P., Contin, M., Pierangeli, G., Avoni, P., Tinuper, P., ... Lugaresi, E. (1991). Cardiovascular dysautonomia in fatal familial insomnia. *Clinical autonomic research : official journal of the Clinical Autonomic Research Society*, 1(1): 15–21. doi: 10.1007/BF01826053.
250. Cortelli, P., Perani, D., Montagna, P., Gallassi, R., Tinuper, P., Provini, F., ... Gambetti, P. (2006). Pre-symptomatic diagnosis in fatal familial insomnia: serial neurophysiological and 18FDG-PET studies. *Brain : a journal of neurology*, 129(3): 668–675. doi: 10.1093/brain/awl003.
251. Coustou, V., Deleu, C., Saupe, S., Begueret, J. (1997) The protein product of the het-s heterokaryon incompatibility gene of the fungus *Podospora anserina* behaves as a prion analog. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(18): 9773–9778. doi: 10.1073/pnas.94.18.9773.
252. Cox, B., Ness, F., Tuite, M. (2003). Analysis of the generation and segregation of propagons: entities that propagate the [PSI+] prion in yeast. *Genetics*, 165(1): 23–33.



253. Cracco, L., Appleby, B.S., Gambetti, P. (2018) Fatal familial insomnia and sporadic fatal insomnia. *Handb Clin Neurol.*, 153: 271–299. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00015-5.
254. Cramm, M., Schmitz, M., Karch, A., Mitrova, E., Kuhn, F., Schroeder, B., ... Zerr, I. (2016). Stability and Reproducibility Underscore Utility of RT-QuIC for Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob Disease. *Molecular neurobiology*, 53(3): 1896–1904. doi: 10.1007/s12035-015-9133-2.
255. Crozet, C., Lin, Y.L., Mettling, C., Mourton-Gilles, C., Corbeau, P., Lehmann, S., Perrier, V. (2004). Inhibition of PrPSc formation by lentiviral gene transfer of PrP containing dominant negative mutations. *Journal of cell science*, 117(23): 5591–5597. doi: 10.1242/jcs.01484.
256. Cuadrado-Corrales, N., Jiménez-Huete, A., Albo, C., Hortigüela, R., Vega, L., Cerrato, L., ... Calero, M. (2006). Impact of the clinical context on the 14-3-3 test for the diagnosis of sporadic CJD. *BMC neurology*, 6: 25. doi: 10.1186/1471-2377-6-25.
257. Cuille, J. (1936) Chelle La tremblante du mouton est bien inoculable. *CR Seances Acad. Sci. Paris*, 206: 78–79.
258. Cunningham, A.A., Kirkwood, J.K., Dawson, M., Spencer, Y.I., Green, R.B., Wells, G.A. (2004). Bovine spongiform encephalopathy infectivity in greater kudu (*Tragelaphus strepsiceros*). *Emerging infectious diseases*, 10(6): 1044–1049. doi: 10.3201/eid1006.030615.
259. Curcio, L., Sebastiani, C., Di Lorenzo, P., Lasagna, E., Biagetti, M. (2016). Review: A review on classical and atypical scrapie in caprine: Prion protein gene polymorphisms and their role in the disease. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 10(10): 1585–1593. doi: 10.1017/S1751731116000653.
260. Cyr, D.M., Lu, X., Douglas, M.G. (1992). Regulation of Hsp70 function by a eukaryotic DnaJ homolog. *The Journal of biological chemistry*, 267(29): 20927–20931.
261. Czub, S., Schulz-Schaeffer, W., Stahl-Hennig, C., Beekes, M., Schaeztl, H., Motzkus, D. Chronic Wasting Disease: PRION 2017 CONFERENCE ABSTRACT First Evidence of Intracranial and Peroral Transmission of Chronic Wasting Disease (CWD) into Cynomolgus Macaques: A Work in Progress. Available online: <http://chronic-wasting-disease.blogspot.hk/2017/06/prion-2017-conference-abstractfirst.html> (accessed on 26 December 2017).
262. Czub, S.; Schulz-Schaeffer, W.; Stahl-Hennig, C.; Beekes, M.; Schaeztl, H.; Motzkus, D. First Evidence of Intracranial and Peroral Transmission of Chronic Wasting Disease (CWD) into Cynomolgus Macaques: A Work in Progress. Available online: <https://cjd.foundation.org/files/pdf/CWD%20study%20oral%20transmission%20of%20CWD%20to%20primates.pdf> (accessed on 24 February 2021).

263. Dagleish, M.P., Martin, S., Steele, P., Finlayson, J., Sisó, S., Hamilton, S., ... Jeffrey, M. (2008). Experimental transmission of bovine spongiform encephalopathy to European red deer (*Cervus elaphus elaphus*). *BMC veterinary research*, 4: 17. doi: 10.1186/1746-6148-4-17.

264. Dagleish, M.P., Martin, S., Steele, P., Finlayson, J., Eaton, S.L., Sisó, S., ... Jeffrey, M. (2015). Susceptibility of European red deer (*Cervus elaphus elaphus*) to alimentary challenge with bovine spongiform encephalopathy. *PLoS one*, 10(1): e0116094. doi:10.1371/journal.pone.0116094.

265. Danilov, E.P. (1984) Bolezni pushnykh zverei. Moscow, Kolos, pp. 63–65.

266. Dassanayake, R.P., Orrú, C.D., Hughson, A.G., Caughey, B., Graça, T., Zhuang, D., ... Schneider, D.A. (2016). Sensitive and specific detection of classical scrapie prions in the brains of goats by real-time quaking-induced conversion. *The Journal of general virology*, 97(3): 803–812. doi: 10.1099/jgv.0.000367.

267. Dassanayake, R.P., Schneider, D.A., Truscott, T.C., Young, A.J., Zhuang, D., O'Rourke, K.I. (2011). Classical scrapie prions in ovine blood are associated with B lymphocytes and platelet-rich plasma. *BMC veterinary research*, 7: 75. doi: 10.1186/1746-6148-7-75.

268. Dassanayake, R.P., Truscott, T.C., Zhuang, D., Schneider, D.A., Madsen-Bouterse, S.A., Young, A.J., ... O'Rourke, K. I. (2015). Classical natural ovine scrapie prions detected in practical volumes of blood by lamb and transgenic mouse bioassays. *Journal of veterinary science*, 16(2), 179–186. doi: 10.4142/jvs.2015.16.2.179.

269. Davenport, K.A., Henderson, D.M., Bian, J., Telling, G.C., Mathiason, C.K., Hoover, E.A. (2015). Insights into Chronic Wasting Disease and Bovine Spongiform Encephalopathy Species Barriers by Use of Real-Time Conversion. *Journal of virology*, 89(18): 9524–9531. doi: 10.1128/JVI.01439-15.

270. Daus, M.L., Breyer, J., Wagenfuehr, K., Wemheuer, W.M., Thomzig, A., Schulz-Schaeffer, W.J., Beekes, M. (2011). Presence and seeding activity of pathological prion protein (PrP(TSE)) in skeletal muscles of white-tailed deer infected with chronic wasting disease. *PLoS one*, 6(4), e18345. doi: 10.1371/journal.pone.0018345.

271. DeArmond, S., Bouzamondo, E. (2002) Fundamentals of prion biology and diseases. *Toxicology*, 181–182: 9–16. doi: 10.1016/S0300-483X(02)00249-4.

272. DeArmond, S., Diskson, D., DeArmond, B. (1996) Human prion diseases. Textbook of Neuropathology / eds by R. Davis, D. Robertson. – 3rd ed. – Williams & Wilkins, P. 1111–1125.

273. Deleault, N.R., Geoghegan, J.C., Nishina, K., Kascsak, R., Williamson, R.A., Supattapone, S. (2005). Protease-resistant prion protein

amplification reconstituted with partially purified substrates and synthetic polyanions. *The Journal of biological chemistry*, 280(29): 26873–26879. doi: 10.1074/jbc.M503973200.

274. Deleault, N.R., Harris, B.T., Rees, J.R., Supattapone, S. (2007). Formation of native prions from minimal components in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(23): 9741–9746. doi: 10.1073/pnas.0702662104.

275. Deleault, N.R., Lucassen, R.W., Supattapone, S. (2003). RNA molecules stimulate prion protein conversion. *Nature*, 425(6959): 717–720. doi: 10.1038/nature01979.

276. Deleault, N.R., Walsh, D.J., Piro, J.R., Wang, F., Wang, X., Ma, J., Rees, J.R., Supattapone, S. (2012). Cofactor molecules maintain infectious conformation and restrict strain properties in purified prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(28): E1938–E1946. doi: 10.1073/pnas.1206999109.

277. DeMarco, M.L., & Daggett, V. (2004). From conversion to aggregation: protofibril formation of the prion protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(8): 2293–2298. doi: 10.1073/pnas.0307178101.

278. DePace A.H., Santoso, A., Hillner, P., Weissman, J.S. (1998). A critical role for amino-terminal glutamine/asparagine repeats in the formation and propagation of a yeast prion. *Cell*, 93(7): 1241–1252. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81467-1.

279. DePace, A.H., Weissman, J.S. (2002). Origins and kinetic consequences of diversity in Sup35 yeast prion fibers. *Nature structural biology*, 9(5): 389–396. doi: 10.1038/nsb786.

280. Derkatch, I.L., Bradley, M.E., Hong, J.Y., Liebman, S.W. (2001). Prions affect the appearance of other prions: the story of [PIN(+)] *Cell*, 106(2): 171–182. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00427-5.

281. Derkatch, I.L., Bradley, M.E., Zhou, P., Chernoff, Y.O., Liebman, S.W. (1997) Genetic and environmental factors affecting the de novo appearance of the [PSI+] prion in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 147(2): 507–519.

282. Derkatch, I.L., Chernoff, Y.O., Kushnirov, V.V., Inge-Vechtomov, S.G., Liebman, S.W. (1996). Genesis and variability of [PSI] prion factors in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 144(4): 1375–1386.

283. de Silva, R., Ironside, J.W., McCardle, L., Esmonde, T., Bell, J., Will, R., ... Lathe, R. (1994). Neuropathological phenotype and 'prion protein' genotype correlation in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuroscience letters*, 179(1–2): 50–52. doi: 10.1016/0304-3940(94)90932-6.

284. Detwiler, L.A., Baylis, M. (2003). The epidemiology of scrapie. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 22(1), 121–143. doi: 10.20506/rst.22.1.1386.

285. Detwiler, L. A., & Rubenstein, R. (2000). Bovine spongiform encephalopathy: an overview. *ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs : 1992)*, 46(6): 73–S79. doi: 10.1097/00002480-200011000-00041.
286. Dexter, G., Tongue, S.C., Heasman, L., Bellworthy, S.J., Davis, A., Moore, S.J., ... Matthews, D. (2009). The evaluation of exposure risks for natural transmission of scrapie within an infected flock. *BMC veterinary research*, 5: 38. doi: 10.1186/1746-6148-5-38.
287. Diack, A.B., Head, M.W., McCutcheon, S., Boyle, A., Knight, R., Ironside, J.W., Manson, J.C., Will, R.G. (2014). Variant CJD. 18 years of research and surveillance. *Prion*, 8(4): 286–295. doi: 10.4161/pri.29237.
288. Diack, A.B., Ritchie, D.L., Peden, A.H., Brown, D., Boyle, A., Morabito, L., ... Manson, J.C. (2014). Variably protease-sensitive prionopathy, a unique prion variant with inefficient transmission properties. *Emerging infectious diseases*, 20(12): 1969–1979. doi: 10.3201/eid2012.140214.
289. Di Bari, M.A., Chianini, F., Vaccari, G., Esposito, E., Conte, M., Eaton, S.L., ... Nonno, R. (2008). The bank vole (*Myodes glareolus*) as a sensitive bioassay for sheep scrapie. *The Journal of general virology*, 89(12): 2975–2985. doi: 10.1099/vir.0.2008/005520-0.
290. Dickinson, A.G., Outram, G.W. (1988). Genetic aspects of unconventional virus infections: the basis of the virino hypothesis. *Ciba Foundation symposium*, 135: 63–83. doi: 10.1002/9780470513613.ch5.
291. Dobson, C.M. (1999). Protein misfolding, evolution and disease. *Trends in biochemical sciences*, 24(9): 329–332. doi: 10.1016/s0968-0004(99)01445-0.
292. Dobson, C.M. (2001) The structural basis of protein folding and its links with human disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 356(1406): 133–145. doi: 10.1098/rstb.2000.0758.
293. Doel, S.M., McCready, S.J., Nierras, C.R., Cox, B.S. (1994). The dominant PNM2-mutation, which eliminates the psi factor of *Saccharomyces cerevisiae*, is the result of a missense mutation in the SUP35 gene. *Genetics*, 137(3): 659–670.
294. Doherr M.G. (2007). Brief review on the epidemiology of transmissible spongiform encephalopathies (TSE). *Vaccine*, 25(30): 5619–5624. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.10.
295. Doherr M.G. (2007). Brief review on the epidemiology of transmissible spongiform encephalopathies (TSE). *Vaccine*, 25(30): 5619–5624. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.10.059.
296. Doh-Ura, K., Iwaki, T., Caughey, B. (2000) Lysosomotropic agents and cysteine protease inhibitors inhibit scrapie-associated prion protein accumulation. *J Virol.*, 74(10): 4894–4897. doi: 10.1128/JVI.74.10.4894-4897.2000.

297. Doh-Ura, K., Kitamoto, T., Sakaki, Y., Tateishi, J. (1991). CJD discrepancy. *Nature*, 353(6347): 801–802. doi: 10.1038/353801b0.
298. Doillon, C.J., Drouin, R., Côte, M.F., Dallaire, N., Pageau, J.F., Laroche, G. (1997). Chemical inactivators as sterilization agents for bovine collagen materials. *Journal of biomedical materials research*, 37(2): 212–221. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(199711)37:2<212::aid-jbm10>3.0.co;2-g.
299. Donaldson, D.S., Kobayashi, A., Ohno, H., Yagita, H., Williams, I.R., & Mabbott, N.A. (2012). M cell-depletion blocks oral prion disease pathogenesis. *Mucosal immunology*, 5(2): 216–225. doi: 10.1038/mi.2011.68.
300. Dorsseleer, A.V., Carapito, C., Delalande, F., Schaeffer-Reiss, C., Thierse, D., Diemer, H., ... Cashman, N.R. (2011) Detection of prion protein in urine-derived injectable fertility products by a targeted proteomic approach. *PLoS One*, 6(3):e17815. doi: 10.1371/journal.pone.0017815.
301. Duffy, P., Wolf, J., Collins, G., DeVoe, A.G., Streeten, B., & Cowen, D. (1974). Letter: Possible person-to-person transmission of Creutzfeldt-Jakob disease. *The New England journal of medicine*, 290(12): 692–693.
302. Eaglestone, S.S., Cox, B.S., Tuite, M.F. (1999). Translation termination efficiency can be regulated in *Saccharomyces cerevisiae* by environmental stress through a prion-mediated mechanism. *The EMBO journal*, 18(7): 1974–1981. doi: 10.1093/emboj/18.7.1974.
303. Eaglestone, S.S., Ruddock, L.W., Cox, B.S., Tuite, M.F. (2000). Guanidine hydrochloride blocks a critical step in the propagation of the prion-like determinant [PSI(+)] of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(1): 240–244. doi: 10.1073/pnas.97.1.240.
304. Editorial team. Fourth case of transfusion-associated vCJD infection in the United Kingdom. *Euro Surveill*, 2007;12: E070118.4.
305. Eckroade, R.J., Zu Rhein, G.M., Marsh, R.F., Hanson, R.P. (1970). Transmissible mink encephalopathy: experimental transmission to the squirrel monkey. *Science (New York, N.Y.)*, 169(3950): 1088–1090. doi: 10.1126/science.169.3950.1088.
306. Eckroade, R.J., ZuRhein, G.M., Hanson, R.P. (1973). Transmissible mink encephalopathy in carnivores: clinical, light and electron microscopic studies in raccons, skunks and ferrets. *Journal of wildlife diseases*, 9(3): 229–240. doi: 10.7589/0090-3558-9.3.229.
307. Eghiaian, F., Grosclaude, J., Lesceu, S., Debey, P., Doublet, B., Tréguer, E., Rezaei, H., Knossow, M. (2004). Insight into the PrPC $\rightarrow$ PrPSc conversion from the structures of antibody-bound ovine prion scrapie-susceptibility variants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(28): 10254–10259. doi: 10.1073/pnas.0400014101.

308. Eiden, M., Hoffmann, C., Balkema-Buschmann, A., Müller, M., Baumgartner, K., Groschup, M.H. (2010). Biochemical and immunohistochemical characterization of feline spongiform encephalopathy in a German captive cheetah. *The Journal of general virology*, 91(11): 2874–2883. doi: 10.1099/vir.0.022103-0.
309. Eigen, M. (1971) Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften*, 58(10): 465–523. doi: 10.1007/BF00623322.
310. Eisenberg, D., Jucker, M. (2012) The amyloid state of proteins in human diseases. *Cell*, 148(6): 1188–1203. doi: 10.1016/j.cell.2012.02.022.
311. EFSA (2014) Protocol for further laboratory investigation in to the distribution of infectivity of Atypical BSE. *EFSA J.*, 12(7): 3798.
312. Elder, A.M., Henderson, D.M., Nalls, A.V., Wilham, J.M., Caughey, B.W., Hoover, E.A., ... Mathiason, C. K. (2013). In vitro detection of prionemia in TSE-infected cervids and hamsters. *PloS one*, 8(11): e80203. doi: 10.1371/journal.pone.0080203.
313. Elghetany, M.T., Saleem, A. (1988). Methods for staining amyloid in tissues: a review. *Stain technology*, 63(4): 201–212. doi: 10.3109/10520298809107185.
314. Eloit, M., Adjou, K., Couplier, M., Fontaine, J.J., Hamel, R., Lilin, T., ... Sarradin, P. (2005). BSE agent signatures in a goat. *The Veterinary record*, 156(16): 523–524. doi: 10.1136/vr.156.16.523-b.
315. Enari, M., Flechsig, E., Weissmann, C. (2001). Scrapie prion protein accumulation by scrapie-infected neuroblastoma cells abrogated by exposure to a prion protein antibody. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(16): 9295–9299. doi: 10.1073/pnas.151242598.
316. Epstein, V., Pointing, S., Halfacre, S. (2005). Atypical scrapie in the Falkland Islands. *The Veterinary record*, 157(21): 667–668. doi: 10.1136/vr.157.21.667-c.
317. Ersdal, C., Ulvund, M.J., Benestad, S.L., & Tranulis, M.A. (2003). Accumulation of pathogenic prion protein (PrP<sup>Sc</sup>) in nervous and lymphoid tissues of sheep with subclinical scrapie. *Veterinary pathology*, 40(2): 164–174. doi: 10.1354/vp.40-2-164.
318. Ersdal, C., Ulvund, M.J., Espenes, A., Benestad, S.L., Sarradin, P., & Landsverk, T. (2005). Mapping PrP<sup>Sc</sup> propagation in experimental and natural scrapie in sheep with different PrP genotypes. *Veterinary pathology*, 42(3): 258–274. doi: 10.1354/vp.42-3-258.
319. Espenes, A., Press, C.M., Landsverk, T., Tranulis, M.A., Aleksandersen, M., Gunnes, G., ... Ulvund, M. J. (2006). Detection of PrP(Sc) in rectal biopsy and necropsy samples from sheep with experimental scrapie. *Journal of comparative pathology*, 134(2–3): 115–125. doi: 10.1016/j.jcpa.2005.08.001.

320. Espinosa, J.C., Morales, M., Castilla, J., Rogers, M., Torres, J.M. (2007). Progression of prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiform encephalopathy challenge. *The Journal of general virology*, 88(4): 1379–1383. doi: 10.1099/vir.0.82647-0.

321. Espinosa, J.C., Nonno, R., Di Bari, M., Aguilar-Calvo, P., Pirisinu, L., Fernández-Borges, N., ... Torres, J. M. (2016). PrPC Governs Susceptibility to Prion Strains in Bank Vole, While Other Host Factors Modulate Strain Features. *Journal of virology*, 90(23): 10660–10669. doi: 10.1128/JVI.01592-16.

322. European Centre for Disease Prevention and Control. *EU case definition* <https://www.ecdc.europa.eu/en/infectious-diseases-public-health/variantcreutzfeldt-jakob-disease/eu-case-definition> (2017).

323. European Commission. Control of TSEs (including BSE and scrapie). 2016. Available at: [http://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food\\_borne\\_diseases/tse\\_bse/index\\_en.htm#](http://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food_borne_diseases/tse_bse/index_en.htm#). Accessed 26 Aug 2016.

324. European Commission: Regulation (EC) № 162/2009 of the European Parliament and of the Council of 26 February 2009 amending Annexes III and X to regulation (EC) № 999/2001 laying down rules for the prevention control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. *Off J Eur Communities*. 2009; 55: 11–16.

325. European Food Safety Authority (2010). Scientific opinion on the results of the EU survey for Chronic Wasting Disease (CWD) in cervids. *EFSA Journal*, 8, 1861.

326. European Food Safety Authority [EFSA] Scientific Expert Group. Scientific report of the European Food Safety Authority on the evaluation of rapid post mortem TSE tests intended for small ruminants. EFSA; 2005 May. 17 p. Question no. EFSA-Q-2003-084. Available at: [http://www.efsa.eu.int/science/tse\\_assessments/bse\\_tse/983/biohaz\\_sr31\\_smallruminantstests\\_en1.pdf](http://www.efsa.eu.int/science/tse_assessments/bse_tse/983/biohaz_sr31_smallruminantstests_en1.pdf). \* Accessed 4 Apr. 2007.

327. European Food Safety Authority [EFSA]. EFSA opinion on the likelihood of BSE infectivity in specified risk material. EFSA; 2007 Jul. Available at: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/biohaz070511.htm>. Accessed 25 Aug 2007.

328. European Food Safety Authority [EFSA] Scientific Opinion on the scrapie situation in the EU after 10 years of monitoring and control in sheep and goats. *EFSA J*. 2014;12(7):3781.

329. European Commission. TSE/BSE [http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/tse\\_bse/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/tse_bse/index_en.htm).

330. European Food Safety Authority (EFSA). The European Union Summary Report on Surveillance for the Presence of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE) in 2019. *EFSA J*. 2020, 18.

331. Everest, S.J., Ramsay, A.M., Chaplin, M.J., Everitt, S., Stack, M.J., Neale, M.H., ... Terry, L.A. (2011). Detection and localisation of PrP(Sc) in the

liver of sheep infected with scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *PLoS one*, 6(5): e19737. doi: 10.1371/journal.pone.0019737.

332. Everest, S.J., Thorne, L., Barnicle, D.A., Edwards, J.C., Elliott, H., Jackman, R., Hope, J. (2006). Atypical prion protein in sheep brain collected during the British scrapie-surveillance programme. *The Journal of general virology*, 87(2): 471–477. doi: 10.1099/vir.0.81539-0.

333. Everest, S.J., Thorne, L.T., Hawthorn, J.A., Jenkins, R., Hammersley, C., Ramsay, A.M., ... Jackman, R. (2006). No abnormal prion protein detected in the milk of cattle infected with the bovine spongiform encephalopathy agent. *The Journal of general virology*, 87(8): 2433–2441. doi: 10.1099/vir.0.81491-0.

334. Farlow, M.R., Yee, R.D., Dlouhy, S.R., Conneally, P.M., Azzarelli, B., & Ghetti, B. (1989). Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. I. Extending the clinical spectrum. *Neurology*, 39(11), 1446–1452. doi: 10.1212/wnl.39.11.1446.

335. Fast, C., Groschup, M.H. (2013). Classical and atypical scrapie in sheep and goats. In *Prions and Diseases, Volume 2, Animals, Humans and the Environment*. Eds. Zou, W-Q. and Gambetti, P. New York: Springer, pp: 15–44.

336. Fast, C., Keller, M., Balkema-Buschmann, A., Hills, B., Groschup, M.H. (2013). Complementary studies detecting classical bovine spongiform encephalopathy infectivity in jejunum, ileum and ileocaecal junction in incubating cattle. *Veterinary research*, 44(1): 123. doi: 10.1186/1297-9716-44-123.

337. Fatzer, R., & Vandeveld, M. (1998). Transmissible spongiforme Enzephalopathien (TSE) bei Tieren [Transmissible spongiform encephalopathies in animals]. *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)*, 148(4): 78–85.

338. Fichet, G., Comoy, E., Dehen, C., Challier, L., Antloga, K., Deslys, J.P., McDonnell, G. (2007). Investigations of a prion infectivity assay to evaluate methods of decontamination. *Journal of microbiological methods*, 70(3): 511–518. doi: 10.1016/j.mimet.2007.06.005.

339. Fichet, G., Comoy, E., Duval, C., Antloga, K., Dehen, C., Charbonnier, A., ... Deslys, J.P. (2004). Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices. *Lancet (London, England)*, 364(9433): 521–526. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16810-4.

340. Figgie, M.P., Jr, & Appleby, B.S. (2021). Clinical Use of Improved Diagnostic Testing for Detection of Prion Disease. *Viruses*, 13(5): 789. doi: 10.3390/v13050789.

341. Fediaevsky, A., Calavas, D., Gasqui, P., Moazami-Goudarzi, K., Laurent, P., Arzac, J. N., Ducrot, C., Moreno, C. (2010). Quantitative estimation of genetic risk for atypical scrapie in French sheep and potential consequences of the current breeding programme for resistance to scrapie on the risk of atypical scrapie. *Genetics, selection, evolution : GSE*, 42(1): 14. doi: 10.1186/1297-9686-42-14.



342. Fediaevsky, A., Gasqui, P., Calavas, D., Ducrot, C. (2010). Discrepant epidemiological patterns between classical and atypical scrapie in sheep flocks under French TSE control measures. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 185(3): 338–340. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.06.019.
343. Fediaevsky, A., Tongue, S.C., Nöremark, M., Calavas, D., Ru, G., Hopp, P. (2008). A descriptive study of the prevalence of atypical and classical scrapie in sheep in 20 European countries. *BMC veterinary research*, 4: 19. doi: 10.1186/1746-6148-4-19.
344. Fernández-Borges, N., de Castro, J., Castilla, J. (2009). In vitro studies of the transmission barrier. *Prion*, 3(4): 220–223. doi: 10.4161/pri.3.4.10500.
345. Fernández-Borges, N., Espinosa, J.C., Marín-Moreno, A., Aguilar-Calvo, P., Asante, E.A., Kitamoto, T., ... Torres, J.M. (2017) Protective Effect of Val<sub>129</sub>-PrP against Bovine Spongiform Encephalopathy but not Variant Creutzfeldt-Jakob Disease. *Emerg Infect Dis*, 23(9): 1522–1530. doi: 10.3201/eid2309.161948.
346. Ferreira, N.C., Charco, J.M., Plagenz, J., Orru, C.D., Denkers, N.D., Metrick, M. A., ... Caughey, B. (2021). Detection of chronic wasting disease in mule and white-tailed deer by RT-QuIC analysis of outer ear. *Scientific reports*, 11(1): 7702. doi: 10.1038/s41598-021-87295-8.
347. Ferreira, P.C., Ness, F., Edwards, S.R., Cox, B.S., Tuite, M.F. (2001). The elimination of the yeast [PSI<sup>+</sup>] prion by guanidine hydrochloride is the result of Hsp104 inactivation. *Molecular microbiology*, 40(6): 1357–1369. doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02478.x.
348. Ferrillo, F., Plazzi, G., Nobili, L., Beelke, M., De Carli, F., Cortelli, P., ... Montagna, P. (2001). Absence of sleep EEG markers in fatal familial insomnia healthy carriers: a spectral analysis study. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 112(10): 1888–1892. doi: 10.1016/s1388-2457(01)00600-9.
349. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Data: live animals* <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA> (2020).
350. Food Standards Agency. *Bovine Spongiform Encephalopathy*. *Food Standards Agency* <https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/bovinespongiform-encephalopathy-bse> (2017).
351. Foster, J.D., Goldmann, W., & Hunter, N. (2013). Evidence in sheep for pre-natal transmission of scrapie to lambs from infected mothers. *PLoS one*, 8(11): e79433. doi: 10.1371/journal.pone.0079433.
352. Foster, J., McKenzie, C., Parnham, D., Drummond, D., Chong, A., Goldman, W., Hunter, N. (2006). Lateral transmission of natural scrapie to scrapie-free New Zealand sheep placed in an endemically infected UK flock. *The Veterinary record*, 159(19): 633–634. doi: 10.1136/vr.159.19.633.

353. Foster, J., McKenzie, C., Parnham, D., Drummond, D., Goldmann, W., Stevenson, E., Hunter, N. (2006). Derivation of a scrapie-free sheep flock from the progeny of a flock affected by scrapie. *The Veterinary record*, 159(2): 42–45. doi: 10.1136/vr.159.2.42.
354. Fox, K.A., Jewell, J.E., Williams, E.S., & Miller, M.W. (2006). Patterns of PrPCWD accumulation during the course of chronic wasting disease infection in orally inoculated mule deer (*Odocoileus hemionus*). *The Journal of general virology*, 87(11): 3451–3461. doi: 10.1099/vir.0.81999-0.
355. Fragkiadaki, E.G., Vaccari, G., Ekateriniadou, L.V., Agrimi, U., Giadinis, N. D., Chiappini, B., ... Nonno, R. (2011). PRNP genetic variability and molecular typing of natural goat scrapie isolates in a high number of infected flocks. *Veterinary research*, 42(1): 104. doi: 10.1186/1297-9716-42-104.
356. Franz, M., Eiden, M., Balkema-Buschmann, A., Greenlee, J., Schatzl, H., Fast, C., ... Groschup, M. H. (2012). Detection of PrP(Sc) in peripheral tissues of clinically affected cattle after oral challenge with bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of general virology*, 93(12): 2740–2748. doi: 10.1099/vir.0.044578-0.
357. Fraser, H., Dickinson, A.G. (1973). Scrapie in mice. Agent-strain differences in the distribution and intensity of grey matter vacuolation. *Journal of comparative pathology*, 83(1): 29–40. doi: 10.1016/0021-9975(73)90024-8.
358. Froböse, T., Förstl, H., & Förschler, A. (2014). Fatal familial insomnia (FFI) complicated by posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES). *Clinical neuroradiology*, 24(3): 289–291. doi: 10.1007/s00062-013-0243-9.
359. Froböse, T., Slawik, H., Schreiner, R., Veselý, Z., Wiegand, M., Bäuml, J., & Förstl, H. (2012). Agomelatine improves sleep in a patient with fatal familial insomnia. *Pharmacopsychiatry*, 45(1): 34–36. doi: 10.1055/s-0031-1287778.
360. Fujihara, A., Atarashi, R., Fuse, T., Ubagai, K., Nakagaki, T., Yamaguchi, N., ... Nishida, N. (2009). Hyperefficient PrP Sc amplification of mouse-adapted BSE and scrapie strain by protein misfolding cyclic amplification technique. *The FEBS journal*, 276(10): 2841–2848. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.07007.x.
361. Fukuda, S., Iwamaru, Y., Imamura, M., Masujin, K., Shimizu, Y., Matsuura, Y., ... Okada, H. (2009). Intraspecies transmission of L-type-like Bovine Spongiform Encephalopathy detected in Japan. *Microbiology and immunology*, 53(12): 704–707. doi: 10.1111/j.1348-0421.2009.00169.x.
362. Gabizon, R., Telling, G., Meiner, Z., Halimi, M., Kahana, I., Prusiner, S.B. (1996). Insoluble wild-type and protease-resistant mutant prion protein in brains of patients with inherited prion disease. *Nature medicine*, 2(1): 59–64. doi: 10.1038/nm0196-59.

363. Gabriel, J.M., Oesch, B., Kretzschmar, H., Scott, M., Prusiner, S.B. (1992) Molecular cloning of a candidate chicken prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89(19): 9097–9101. doi: 10.1073/pnas.89.19.9097.
364. Gajdusek, D.C., Gibbs, C.J., Alpers, M. (1966). Experimental transmission of a Kuru-like syndrome to chimpanzees. *Nature*. 209(5205): 794–796. doi: 10.1038/209794a0.
365. Gajdusek, D.C. (1971) Introductory remarks. Introduction of the paper of Dr. Holmes. In Proc. Conf. on Atypical Virus Infections: Possible Relevance to Animal Models and Rheumatic Disease, Atlanta, Georgia, 7–8 December 1968 (eds C.L. Christian, P.E. Phillips & R.C. Williams Jr). New York, NY: The Arthritis Foundation, 131: 160–162.
366. Gallassi, R., Morreale, A., Montagna, P., Cortelli, P., Avoni, P., Castellani, R., Gambetti, P., & Lugaresi, E. (1996). Fatal familial insomnia: behavioral and cognitive features. *Neurology*, 46(4), 935–939. doi: 10.1212/wnl.46.4.935.
367. Gambetti, P., Dong, Z., Yuan, J., Xiao, X., Zheng, M., Alshekhlee, A., ... Zou, W.Q. (2008). A novel human disease with abnormal prion protein sensitive to protease. *Annals of neurology*, 63(6): 697–708. doi: 10.1002/ana.21420.
368. Gambetti, P., Kong, Q., Zou, W., Parchi, P., Chen, S.G. (2003) Sporadic and familial CJD: Classification and characterisation. *Br. Med. Bull.*, 66(1): 213–239. doi: <https://doi.org/10.1093/bmb/66.1.213>.
369. Gambetti, P., Parchi, P., Petersen, R.B., Chen, S.G., & Lugaresi, E. (1995). Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: clinical, pathological and molecular features. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 5(1): 43–51. doi: 10.1111/j.1750-3639.1995.tb00576.x.
370. Gambetti, P., Puoti, G., Zou, W.Q. (2011) Variably protease-sensitive prionopathy: a novel disease of the prion protein. *J Mol Neurosci*. 45(3): 422–424. doi: 10.1007/s12031-011-9543-1.
371. Gao, C., Han, J., Zhang, J., Wei, J., Zhang, B.Y., Tian, C., ... Dong, X.P. (2017). Protein Misfolding Cyclic Amplification Cross-Species Products of Mouse-Adapted Scrapie Strain 139A and Hamster-Adapted Scrapie Strain 263K with Brain and Muscle Tissues of Opposite Animals Generate Infectious Prions. *Molecular neurobiology*, 54(5): 3771–3782. doi:10.1007/s12035-016-9945-8.
372. Garza, M.C., Fernández-Borges, N., Bolea, R., Badiola, J.J., Castilla, J., Monleón, E. (2011). Detection of PrPres in genetically susceptible fetuses from sheep with natural scrapie. *PloS one*, 6(12): e27525. doi: 10.1371/journal.pone.0027525.
373. Garza, M.C., Monzón, M., Marín, B., Badiola, J.J., Monleón, E. (2014). Distribution of peripheral PrP(Sc) in sheep with naturally acquired scrapie. *PloS one*, 9(5), e97768. doi: 10.1371/journal.pone.0097768.

374. Gavier-Widén, D., Nöremark, M., Benestad, S., Simmons, M., Renström, L., Bratberg, B., Elvander, M., af Segerstad, C. H. (2004). Recognition of the Nor98 variant of scrapie in the Swedish sheep population. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 16(6): 562–567. doi: 10.1177/104063870401600611.
375. Geissen, M., Krasemann, S., Matschke, J., Glatzel, M. (2007) Understanding the natural variability of prion diseases. *Vaccine*, 25(30): 5631–5636. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.02.041.
376. Geller, V.I. (2003) *Krolikovodstvo i zverovodstvo*, 4, pp. 29–30.
377. Georgsson, G., Adolfsdottir, J.A., Palsdottir, A., Jorundsson, E., Sigurdarson, S., Thorgeirdottir, S. (2008). High incidence of subclinical infection of lymphoid tissues in scrapie-affected sheep flocks. *Archives of virology*, 153(4): 637–644. doi: 10.1007/s00705-008-0035-8.
378. Georgsson, G., Sigurdarson, S., Brown, P. (2006). Infectious agent of sheep scrapie may persist in the environment for at least 16 years. *The Journal of general virology*, 87(12): 3737–3740. doi: 10.1099/vir.0.82011-0.
379. Geschwind M.D. (2015). Prion Diseases. *Continuum (Minneapolis, Minn.)*, 21(6, *Neuroinfectious Disease*): 1612–1638. doi: 10.1212/CON.0000000000000251.
380. Geschwind M.D., Wong K. (2014) Prion diseases. In: Nair A.N., Sabbagh M.N. (Eds.). *Geriatric Neurology*. Wiley-Blackwell, 267–280.
381. Ghaemmaghami, S., Ahn, M., Lessard, P., Giles, K., Legname, G., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B. (2009) Continuous quinacrine treatment results in the formation of drug-resistant prions. *PLoS Pathog.*, 5(11): e1000673. doi: 10.1371/journal.ppat.1000673.
382. Ghetti, B., Piccardo, P., Frangione, B., Bugiani, O., Giaccone, G., Young, K., ...Tagliavini, F. (1996) Prion protein amyloidosis. *Brain Pathol.*, 6(2): 127–145. doi: 10.1111/j.1750-3639.1996.tb00796.x.
383. Ghetti, B., Piccardo, P., & Zanusso, G. (2018). Dominantly inherited prion protein cerebral amyloidoses – a modern view of Gerstmann-Sträussler-Scheinker. *Handbook of clinical neurology*, 153, 243–269. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00014-3.
384. Ghetti, B., Tagliavini, F., Takao, M., Bugiani, O., Piccardo, P. (2003) Hereditary prion protein amyloidoses. *Clin Lab Med*, 23: 65–85. doi: 10.1016/S0272-2712(02)00064-1.
385. Gibbs, C.J., Jr, Amyx, H.L., Bacote, A., Masters, C.L., Gajdusek, D.C. (1980). Oral transmission of kuru, Creutzfeldt-Jakob disease, and scrapie to nonhuman primates. *The Journal of infectious diseases*, 142(2): 205–208. doi: 10.1093/infdis/142.2.205.

386. Gilch, S., Chitoor, N., Taguchi, Y., Stuart, M., Jewell, J.E., Schätzl, H.M. (2011). Chronic wasting disease. *Topics in current chemistry*, 305: 51–77. doi: 10.1007/128\_2011\_159.

387. Gilch S. Overview of chronic wasting disease. In: Kahn CM, Line S, Aiello SE, editors. The Merck veterinary manual [online]. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co; 2013. Available at: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous\\_system/chronic\\_wasting\\_disease/overview\\_of\\_chronic\\_wasting\\_disease.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous_system/chronic_wasting_disease/overview_of_chronic_wasting_disease.html). Accessed 25 Jul 2016.

388. Gilch S. Overview of chronic wasting disease. In: Kahn CM, Line S, Aiello SE, editors.. The Merck veterinary manual [online]. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co; 2013. Available at: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous\\_system/chronic\\_wasting\\_disease/overview\\_of\\_chronic\\_wasting\\_disease.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous_system/chronic_wasting_disease/overview_of_chronic_wasting_disease.html). Accessed 20 Jul 2016.

389. Gilch, S., Winklhofer, K.F., Groschup, M.H., Nunziante, M., Lucassen, R., Spielhauer, C., ... Schätzl, H.M. (2001) Intracellular re-routing of prion protein prevents propagation of PrP(Sc) and delays onset of prion disease. *EMBO J.*, 20(15): 3957–3966. doi: 10.1093/emboj/20.15.3957.

390. Giles, K., Glidden, D.V., Beckwith, R., Seoanes, R., Peretz, D., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B. (2008). Resistance of bovine spongiform encephalopathy (BSE) prions to inactivation. *PLoS pathogens*, 4(11), e1000206. doi: 10.1371/journal.ppat.1000206.

391. Gill, O.N., Spencer, Y., Richard-Loendt, A., Kelly, C., Dabaghian, R., Boyes, L., ... Brandner, S. (2013). Prevalent abnormal prion protein in human appendixes after bovine spongiform encephalopathy epizootic: large scale survey. *BMJ (Clinical research ed.)*, 347: f5675. doi: 10.1136/bmj.f5675.

392. Giovannini, A., Savini, L., Conte, A., Fiore, G.L. (2005). Comparison of BSE prevalence estimates from EU countries for the period July to December 2001 to the OIE and EU GBR classifications. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 52(6), 262–271. doi: 10.1111/j.1439-0450.2005.00862.x.

393. Giraldo, R., Moreno-Díaz de la Espina, S., Fernández-Tresguerres, M.E., Gasset-Rosa, F. (2011). RepA-WH1 prionoid: a synthetic amyloid proteinopathy in a minimalist host. *Prion*. 5(2): 60–64. doi: 10.4161/pri.5.2.14913.

394. Glatzel, M., Aguzzi, A. (2000) PrP(C) expression in the peripheral nervous system is a determinant of prion neuroinvasion. *J Gen Virol.*, 81(11): 2813–2821. doi: 10.1099/0022-1317-81-11-2813.

395. Glatzel, M., Ott, P.M., Lindner, T., Gebbers, J.O., Gmür, A., Wüst, W., ... Aguzzi, A. (2003) Human prion diseases: epidemiology and integrated risk assessment. *Lancet Neurol.*, 2: 757–763. doi: 10.1016/s1474-4422(03)00588-x.

396. Glatzel, M., Stoeck, K., Seeger, H., Lührs, T., Aguzzi, A. (2005) Human Prion Diseases. Molecular and Clinical Aspects. *Arch Neurol.*, 62(4): 545–552. doi: 10.1001/archneur.62.4.545.
397. Glover, J.R., Kowal, A.S., Schirmer, E.C., Patino, M.M., Liu, J.J., Lindquist, S. (1997). Self-seeded fibers formed by Sup35, the protein determinant of [PSI<sup>+</sup>], a heritable prion-like factor of *S. cerevisiae*. *Cell*, 89(5), 811–819. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80264-0.
398. Glover, J.R., Lindquist, S. (1998). Hsp104, Hsp70, and Hsp40: a novel chaperone system that rescues previously aggregated proteins. *Cell*, 94(1), 73–82. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81223-4.
399. Golde, T.E., Borchelt, D.R., Giasson, B.I., Lewis, J. (2013) Thinking laterally about neurodegenerative proteinopathies. *J Clin Invest*, 123(5): 1847–1855. doi: 10.1172/JCI66029.
400. Goldfarb, L.G., Petersen, R.B., Tabaton, M., Brown, P., LeBlanc, A.C., Montagna, P., ... Pendelbury, W.W. (1992). Fatal familial insomnia and familial Creutzfeldt-Jakob disease: disease phenotype determined by a DNA polymorphism. *Science (New York, N.Y.)*, 258(5083): 806–808. doi: 10.1126/science.1439789.
401. Goldmann, W., Hunter, N., Smith, G., Foster, J., Hope, J. (1994). PrP genotype and agent effects in scrapie: change in allelic interaction with different isolates of agent in sheep, a natural host of scrapie. *The Journal of general virology*, 75(5): 989–995. doi: 10.1099/0022-1317-75-5-989.
402. Goldmann, W. (2008). PrP genetics in ruminant transmissible spongiform encephalopathies. *Veterinary research*, 39(4): 30. doi: 10.1051/vetres:2008010.
403. Goedert, M. (2015) Neurodegeneration. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A $\beta$ , tau, and  $\alpha$ -synuclein. *Science*, 349(6248):1255555. doi: 10.1126/science.1255555.
404. González, L., Chianini, F., Martin, S., Sisó, S., Gibbard, L., Reid, H.W., Jeffrey, M. (2007). Comparative titration of experimental ovine BSE infectivity in sheep and mice. *The Journal of general virology*, 88(2): 714–717. doi: 10.1099/vir.0.82426-0.
405. González, L., Dagleish, M.P., Martin, S., Dexter, G., Steele, P., Finlayson, J., Jeffrey, M. (2008). Diagnosis of preclinical scrapie in live sheep by the immunohistochemical examination of rectal biopsies. *The Veterinary record*, 162(13): 397–403. doi: 10.1136/vr.162.13.397.
406. González, L., Martin, S., Begara-McGorum, I., Hunter, N., Houston, F., Simmons, M., & Jeffrey, M. (2002). Effects of agent strain and host genotype on PrP accumulation in the brain of sheep naturally and experimentally affected with scrapie. *Journal of comparative pathology*, 126(1): 17–29. doi: 10.1053/jcpa.2001.0516.

407. González, L., Martin, S., Sisó, S., Konold, T., Ortiz-Peláez, A., Phelan, L., ... Hope, J. (2009). High prevalence of scrapie in a dairy goat herd: tissue distribution of disease-associated PrP and effect of PRNP genotype and age. *Veterinary research*, 40(6): 65. doi: 10.1051/vetres/2009048.
408. González, L., Thorne, L., Jeffrey, M., Martin, S., Spiropoulos, J., Beck, K. E., ...Terry, L. (2012). Infectious titres of sheep scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents cannot be accurately predicted from quantitative laboratory test results. *The Journal of general virology*, 93(11): 2518–2527. doi: 10.1099/vir.0.045849-0.
409. González, L., Pitarch, J.L., Martin, S., Thurston, L., Moore, J., Acín, C., Jeffrey, M. (2014). Identical pathogenesis and neuropathological phenotype of scrapie in valine, arginine, glutamine/valine, arginine, glutamine sheep infected experimentally by the oral and conjunctival routes. *Journal of comparative pathology*, 150(1): 47–56. doi: 10.1016/j.jcpa.2013.06.006
410. González, L., Pitarch, J. L., Martin, S., Thurston, L., Simmons, H., Acín, C., Jeffrey, M. (2014). Influence of polymorphisms in the prion protein gene on the pathogenesis and neuropathological phenotype of sheep scrapie after oral infection. *Journal of comparative pathology*, 150(1): 57–70. doi: 10.1016/j.jcpa.2013.10.001.
411. González, L., Sisó, S., Monleón, E., Casalone, C., van Keulen, L.J., Balkema-Buschmann, A., ... Acín, C. (2010). Variability in disease phenotypes within a single PRNP genotype suggests the existence of multiple natural sheep scrapie strains within Europe. *The Journal of general virology*, 91(10): 2630–2641. doi: 10.1099/vir.0.022574-0.
412. Gonzalez-Montalban, N., Lee, Y.J., Makarava, N., Savtchenko, R., Baskakov, I.V. (2013). Changes in prion replication environment cause prion strain mutation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 27(9): 3702–3710. doi: 10.1096/fj.13-230466.
413. Gordon, W.S. (1946) Advances in veterinary research. *Vet Rec.*, 1946; 58(47): 516–520.
414. Götte, D.R., Benestad, S.L., Laude, H., Zurbriggen, A., Oevermann, A., Seuberlich, T. (2011). Atypical scrapie isolates involve a uniform prion species with a complex molecular signature. *PloS one*, 6(11): e27510. doi: 10.1371/journal.pone.0027510.
415. Gough, K.C., Baker, C.A., Rees, H.C., Terry, L.A., Spiropoulos, J., Thorne, L., Maddison, B.C. (2012). The oral secretion of infectious scrapie prions occurs in preclinical sheep with a range of PRNP genotypes. *Journal of virology*, 86(1): 566–571. doi: 10.1128/JVI.05579-11.
416. Gough, K.C., Baker, C.A., Simmons, H.A., Hawkins, S.A., Maddison, B.C. (2015). Circulation of prions within dust on a scrapie affected farm. *Veterinary research*, 46(1): 40. doi: 10.1186/s13567-015-0176-1.

417. Gough, K.C., Bishop, K., Maddison, B.C. (2014). Highly sensitive detection of small ruminant bovine spongiform encephalopathy within transmissible spongiform encephalopathy mixes by serial protein misfolding cyclic amplification. *Journal of clinical microbiology*, 52(11): 3863–3868. doi: 10.1128/JCM.01693-14.
418. Gough, K.C., & Maddison, B.C. (2010). Prion transmission: prion excretion and occurrence in the environment. *Prion*, 4(4): 275–282. doi: 10.4161/pri.4.4.13678.
419. Gould, D.H., Voss, J.L., Miller, M.W., Bachand, A.M., Cummings, B.A., Frank, A.A. (2003). Survey of cattle in northeast Colorado for evidence of chronic wasting disease: geographical and high-risk targeted sample. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 15(3): 274–277. doi:10.1177/104063870301500309.
420. Govaerts, C., Wille, H., Prusiner, S.B., & Cohen, F.E. (2004). Evidence for assembly of prions with left-handed beta-helices into trimers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(22): 8342–8347. doi: 10.1073/pnas.0402254101.
421. Gray, J.G., Dudas, S., Graham, C., Czub, S. (2012). Performance analysis of rapid diagnostic tests on atypical bovine spongiform encephalopathy. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(5): 976–980. doi: 10.1177/1040638712455325.
422. Grassmann, A., Wolf, H., Hofmann, J., Graham, J., Vorberg, I. (2013). Cellular aspects of prion replication in vitro. *Viruses*, 5(1): 374–405. doi: 10.3390/v5010374.
423. Green, K.M., Castilla, J., Seward, T.S., Napier, D.L., Jewell, J.E., Soto, C., Telling, G.C. (2008). Accelerated high fidelity prion amplification within and across prion species barriers. *PLoS pathogens*, 4(8): e1000139. doi: 10.1371/journal.ppat.1000139.
424. Green, K.M., Browning, S.R., Seward, T.S., Jewell, J.E., Ross, D.L., Green, M.A., ... Telling, G.C. (2008). The elk PRNP codon 132 polymorphism controls cervid and scrapie prion propagation. *The Journal of general virology*, 89(2): 598–608. doi: 10.1099/vir.0.83168-0.
425. Green A. (2019). RT-QuIC: a new test for sporadic CJD. *Practical neurology*, 19(1), 49–55. doi: 10.1136/practneurol-2018-001935.
426. Green, A.J., Thompson, E.J., Stewart, G.E., Zeidler, M., McKenzie, J.M., MacLeod, M.A., ... Knight, R.S. (2001). Use of 14-3-3 and other brain-specific proteins in CSF in the diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 70(6): 744–748. doi: 10.1136/jnnp.70.6.744.



427. Green, A., Zanusso, G. (2018). Prion protein amplification techniques. *Handbook of clinical neurology*, 153: 357–370. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00019-2.
428. Greenlee, J.J., Kunkle, R.A., Richt, J.A., Nicholson, E.M., & Hamir, A.N. (2014). Lack of prion accumulation in lymphoid tissues of PRNP ARQ/ARR sheep intracranially inoculated with the agent of scrapie. *PLoS one*, 9(9): e108029. doi: 10.1371/journal.pone.0108029.
429. Greenlee, J.J., Nicholson, E.M., Smith, J.D., Kunkle, R.A., Hamir, A.N. (2012). Susceptibility of cattle to the agent of chronic wasting disease from elk after intracranial inoculation. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(6): 1087–1093. doi: 10.1177/1040638712461249.
430. Greenlee, J.J., Smith, J.D., Hamir, A.N. (2016). Oral inoculation of neonatal Suffolk sheep with the agent of classical scrapie results in PrP(Sc) accumulation in sheep with the PRNP ARQ/ARQ but not the ARQ/ARR genotype. *Research in veterinary science*, 105: 188–191. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.02.016.
431. Greenlee J.J. (2019). Review: Update on Classical and Atypical Scrapie in Sheep and Goats. *Veterinary pathology*, 56(1): 6–16. doi: 10.1177/0300985818794247.
432. Greenlee, J.J., Zhang, X., Nicholson, E.M., Kunkle, R.A., Hamir, A.N. (2012). Prolonged incubation time in sheep with prion protein containing lysine at position 171. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(3): 554–558. doi: 10.1177/1040638712440993.
433. Greenwood P. (2002). Federal disease control--scrapie. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 43(8): 625–629.
434. Grégoire, S., Bergot, A. S., Féraudet, C., Carnaud, C., Aucouturier, P., & Rosset, M. B. (2005). The murine B cell repertoire is severely selected against endogenous cellular prion protein. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 175(10): 6443–6449. doi: 10.4049/jimmunol.175.10.6443.
435. Grimminger, V., Richter, K., Imhof, A., Buchner, J., Walter, S. (2004). The prion curing agent guanidinium chloride specifically inhibits ATP hydrolysis by Hsp104. *The Journal of biological chemistry*, 279(9): 7378–7383. doi: 10.1074/jbc.M312403200.
436. Groschup, M.H., Kretzschmar, H.A. (2000) (Eds) *Prion Diseases: Diagnosis and Pathogenesis Springer-Verlag*, Vienna, 290 p.
437. Groschup, M.H., Lacroux, C., Buschmann, A., Lühken, G., Mathey, J., Eiden, M., ... Andreoletti, O. (2007). Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France. *Emerging infectious diseases*, 13(8): 1201–1207. doi: 10.3201/eid1308.070077.

438. Guaraldi, P., Calandra-Buonaura, G., Terlizzi, R., Montagna, P., Lugaresi, E., Tinuper, P., Cortelli, P., & Provini, F. (2011). Oneiric stupor: the peculiar behaviour of agrypnia excitata. *Sleep medicine*, 12 (2): 64–67. doi: 10.1016/j.sleep.2011.10.014.

439. Guiroy, D.C., Williams, E.S., Yanagihara, R., Gajdusek, D.C. (1991). Topographic distribution of scrapie amyloid-immunoreactive plaques in chronic wasting disease in captive mule deer (*Odocoileus hemionus hemionus*). *Acta neuropathologica*, 81(5): 475–478. doi: 10.1007/BF00310125.

440. Guiroy, D.C., Williams, E.S., Song, K.J., Yanagihara, R., Gajdusek, D.C. (1993). Fibrils in brain of Rocky Mountain elk with chronic wasting disease contain scrapie amyloid. *Acta neuropathologica*, 86(1): 77–80. doi: 10.1007/BF00454902.

441. Guldemann, C., Gsponer, M., Drögemüller, C., Oevermann, A., Seuberlich, T. (2012). Atypical H-type bovine spongiform encephalopathy in a cow born after the reinforced feed ban on meat-and-bone meal in Europe. *Journal of clinical microbiology*, 50(12): 4171–4174. doi: 10.1128/JCM.02178-12.

442. Guo, J.L., Lee, V.M. (2014). Cell-to-cell transmission of pathogenic proteins in neurodegenerative diseases. *Nat. Med.* 20: 130–138. doi: 10.1038/nm.3457.

443. Hadlow, W.J., Karstad, L. (1968) Transmissible encephalopathy of mink in Ontario. *Can Vet J.*, 9: 193–196.

444. Hadlow, W.J., Kennedy, R.C., & Race, R.E. (1982). Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *The Journal of infectious diseases*, 146(5), 657–664. doi: 10.1093/infdis/146.5.657.

445. Hadlow, W.J., Race, R.E., Kennedy, R.C. (1987). Experimental infection of sheep and goats with transmissible mink encephalopathy virus. *Canadian journal of veterinary research*, 51(1): 135–144.

446. Hainfellner, J.A., Brantner-Inthaler, S., Cervenáková, L., Brown, P., Kitamoto, T., Tateishi, J., ... Feucht M. (1995) The original Gerstmann-Sträussler-Scheinker family of Austria: divergent clinicopathological phenotypes but constant PrP genotype. *Brain Pathol.*, 5: 201-211. doi: 10.1111/j.1750-3639.1995.tb00596.x.

447. Haley, N.J., & Hoover, E.A. (2015). Chronic wasting disease of cervids: current knowledge and future perspectives. *Annual review of animal biosciences*, 3: 305–325. doi: 10.1146/annurev-animal-022114-111001.

448. Haley, N.J., Mathiason, C.K., Zabel, M.D., Telling, G.C., Hoover, E.A. (2009). Detection of sub-clinical CWD infection in conventional test-negative deer long after oral exposure to urine and feces from CWD+ deer. *PLoS one*, 4(11): e7990. doi: 10.1371/journal.pone.0007990.

449. Haley, N.J., Seelig, D.M., Zabel, M.D., Telling, G.C., Hoover, E.A. (2009). Detection of CWD prions in urine and saliva of deer by transgenic mouse bioassay. *PLoS one*, 4(3): e4848. doi: 10.1371/journal.pone.0004848.

450. Haley, N.J., Mathiason, C.K., Carver, S., Zabel, M., Telling, G.C., Hoover, E.A. (2011). Detection of chronic wasting disease prions in salivary, urinary, and intestinal tissues of deer: potential mechanisms of prion shedding and transmission. *Journal of virology*, 85(13): 6309–6318. doi: 10.1128/JVI.00425-11.

451. Haley, N.J., Van de Motter, A., Carver, S., Henderson, D., Davenport, K., Seelig, D.M., Mathiason, C., Hoover, E. (2013). Prion-seeding activity in cerebrospinal fluid of deer with chronic wasting disease. *PLoS one*, 8(11): e81488. doi: 10.1371/journal.pone.0081488.

452. Haley, N.J., Richt, J.A. (2017). Evolution of Diagnostic Tests for Chronic Wasting Disease, a Naturally Occurring Prion Disease of Cervids. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 6(3): 35. doi: 10.3390/pathogens6030035.

453. Haley, N.J., Siepker, C., Walter, W.D., Thomsen, B.V., Greenlee, J.J., Lehmkuhl, A.D., & Richt, J.A. (2016). Antemortem Detection of Chronic Wasting Disease Prions in Nasal Brush Collections and Rectal Biopsy Specimens from White-Tailed Deer by Real-Time Quaking-Induced Conversion. *Journal of clinical microbiology*, 54(4): 1108–1116. doi: 10.1128/JCM.02699-15.

454. Hall, V., Brookes, D., Nacul, L., Gill, O.N., Connor, N. (2014) CJD Incidents Panel. Managing the risk of iatrogenic transmission of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *The Journal of hospital infection*, 88(1): 22–27. doi: 10.1016/j.jhin.2014.06.002.

455. Halliez, S., Jaumain, E., Huor, A., Douet, J.Y., Lugan, S., Cassard, H., ... Vilette, D. (2014). White blood cell-based detection of asymptomatic scrapie infection by ex vivo assays. *PLoS one*, 9(8): e104287. doi: 10.1371/journal.pone.0104287.

456. Halliday, M., Radford, H., Sekine, Y., Moreno, J., Verity, N., le Quesne, J., ... Mallucci, G.R. (2015). Partial restoration of protein synthesis rates by the small molecule ISRIB prevents neurodegeneration without pancreatic toxicity. *Cell death & disease*, 6(3): e1672. doi: 10.1038/cddis.2015.49.

457. Halliday, M., Radford, H., Zents, K., Molloy, C., Moreno, J.A., Verity, N.C., ... Mallucci, G. R. (2017). Repurposed drugs targeting eIF2 $\alpha$ -P-mediated translational repression prevent neurodegeneration in mice. *Brain : a journal of neurology*, 140(6): 1768–1783. doi: 10.1093/brain/awx074.

458. Haldiman, T., Kim, C., Cohen, Y., Chen, W., Blevins, J., Qing, L., ... Safar, J. G. (2013). Co-existence of distinct prion types enables conformational evolution of human PrP<sup>Sc</sup> by competitive selection. *The Journal of biological chemistry*, 288(41): 29846–29861. doi: 10.1074/jbc.M113.500108.

459. Hanson, R.P., Eckroade, R.J., Marsh, R.F., Zu Rhein, G.M., Kanitz, C.L., Gustafson, D.P. (1971). Susceptibility of mink to sheep scrapie. *Science (New York, N.Y.)*, 172(3985): 859–861. doi: 10.1126/science.172.3985.859.

460. Hamaguchi, T., Kitamoto, T., Sato, T., Mizusawa, H., Nakamura, Y., Noguchi, M., ... Yamada, M. (2005). Clinical diagnosis of MM2-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurology*, 64(4): 643–648. doi: 10.1212/01.WNL.0000151847.57956.FA.

461. Hamir, A.N., Clark, W.W., Sutton, D.L., Miller, J.M., Stack, M.J., Chaplin, M.J., Jenny, A.L. (2002). Resistance of domestic cats to a US sheep scrapie agent by intracerebral route. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 14(5): 444–445. doi: 10.1177/104063870201400519.

462. Hamir, A.N., Greenlee, J.J., Nicholson, E.M., Kunkle, R.A., Richt, J.A., Miller, J.M., Hall, M. (2011) Experimental transmission of chronic wasting disease (CWD) from elk and white-tailed deer to fallow deer by intracerebral route: final report. *Can J Vet Res.*, 75(2): 152–156.

463. Hamir, A. N., Kehrli, M.E., Jr, Kunkle, R.A., Greenlee, J.J., Nicholson, E.M., Richt, J.A., Miller, J.M., & Cutlip, R.C. (2011). Experimental interspecies transmission studies of the transmissible spongiform encephalopathies to cattle: comparison to bovine spongiform encephalopathy in cattle. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 23(3): 407–420. doi: 10.1177/1040638711403404.

464. Hamir, A.N., Kunkle, R.A., Miller, J.M., Cutlip, R.C., Richt, J.A., Kehrli, M.E., Jr, Williams, E.S. (2007). Age-related lesions in laboratory-confined raccoons (*Procyon lotor*) inoculated with the agent of chronic wasting disease of mule deer. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 19(6): 680–686. doi: 10.1177/104063870701900610.

465. Hamir, A.N., Kunkle, R.A., Miller, J.M., Bartz, J.C., Richt, J.A. (2006). First and second cattle passage of transmissible mink encephalopathy by intracerebral inoculation. *Veterinary pathology*, 43(2): 118–126. doi: 10.1354/vp.43-2-118.

466. Hamir, A.N., Kunkle, R.A., Miller, J.M., & Richt, J.A. (2005). Second passage of sheep scrapie and transmissible mink encephalopathy (TME) agents in raccoons (*Procyon lotor*). *Veterinary pathology*, 42(6): 844–851. doi: 10.1354/vp.42-6-844.

467. Hamir, A.N., Kunkle, R.A., Nicholson, E.M., Miller, J.M., Hall, S.M., Schoenenbruecher, H., Brunelle, B.W., Richt, J.A. (2008). Preliminary observations on the experimental transmission of chronic wasting disease

(CWD) from elk and white-tailed deer to fallow deer. *Journal of comparative pathology*, 138(2–3): 121–130. doi: 10.1016/j.jcpa.2007.12.002.

468. Hamir, A.N., Kunkle, R.A., Richt, J.A., Miller, J.M., Greenlee, J.J. (2008). Experimental transmission of US scrapie agent by nasal, peritoneal, and conjunctival routes to genetically susceptible sheep. *Veterinary pathology*, 45(1): 7–11. doi: 10.1354/vp.45-1-7.

469. Hamir, A.N., Miller, J.M., Cutlip, R.C., Stack, M.J., Chaplin, M.J., Jenny, A.L., Williams, E.S. (2003). Experimental inoculation of scrapie and chronic wasting disease agents in raccoons (*Procyon lotor*). *The Veterinary record*, 153(4): 121–123. doi: 10.1136/vr.153.4.121.

470. Hamir, A.N., Miller, J.M., O'Rourke, K.I., Bartz, J.C., Stack, M.J., Chaplin, M. J. (2004). Transmission of transmissible mink encephalopathy to raccoons (*Procyon lotor*) by intracerebral inoculation. *Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 16(1): 57–63. doi: 10.1177/104063870401600110.

471. Harman, J.L., Silva, C.J. (2009). Bovine spongiform encephalopathy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(1): 59–72. doi: 10.2460/javma.234.1.59.

472. Harrington, R.D., Baszler, T.V., O'Rourke, K.I., Schneider, D.A., Spraker, T.R., Liggitt, H.D., Knowles, D.P. (2008). A species barrier limits transmission of chronic wasting disease to mink (*Mustela vison*). *The Journal of general virology*, 89(4): 1086–1096. doi: 10.1099/vir.0.83422-0.

473. Häusermann, C., Schwermer, H., Oevermann, A., Nentwig, A., Zurbriggen, A., Heim, D., Seuberlich, T. (2010). Surveillance and simulation of bovine spongiform encephalopathy and scrapie in small ruminants in Switzerland. *BMC veterinary research*, 6: 20. doi: 10.1186/1746-6148-6-20.

474. Hautaniemi, M., Tapiovaara, H., Korpenfelt, S.L., Sihvonen, L. (2012). Genotyping and surveillance for scrapie in Finnish sheep. *BMC veterinary research*, 8: 122. doi: 10.1186/1746-6148-8-122.

475. Hawkins, S.A., Simmons, H.A., Gough, K.C., Maddison, B.C. (2015). Persistence of ovine scrapie infectivity in a farm environment following cleaning and decontamination. *The Veterinary record*, 176(4): 99. doi: 10.1136/vr.102743.

476. Haïk, S., Galanaud, D., Lingurar, M.G., Peoc'h, K., Privat, N., Faucheux, B. A., ... Brandel, J.P. (2008). In vivo detection of thalamic gliosis: a pathoradiologic demonstration in familial fatal insomnia. *Archives of neurology*, 65(4): 545–549. doi: 10.1001/archneur.65.4.545.

477. Haybaeck, J., Heikenwalder, M., Klevenz, B., Schwarz, P., Margalith, I., Bridel, C., ... Aguzzi, A. (2011) Aerosols transmit prions to immunocompetent and immunodeficient mice. *PLoS Pathog*, 7(1):e1001257. doi: 10.1371/journal.ppat.1001257.

478. Hayashi, Y., Iwasaki, Y., Takekoshi, A., Yoshikura, N., Asano, T., Mimuro, M., ... Inuzuka, T. (2016). An autopsy-verified case of FTLT-DTP type A with upper motor neuron-predominant motor neuron disease mimicking MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Prion*, 10(6): 492–501. doi: 10.1080/19336896.2016.1243192.
479. Hayashi, Y., Iwasaki, Y., Yoshikura, N., Asano, T., Hatano, T., Tatsumi, S., ... Inuzuka, T. (2015). Decreased regional cerebral blood flow in the bilateral thalami and medulla oblongata determined by an easy Z-score (eZIS) analysis of (99m)Tc-ECD-SPECT images in a case of MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Journal of the neurological sciences*, 358(1–2): 447–452. doi: 10.1016/j.jns.2015.09.356.
480. Hayashi, H.K., Yokoyama, T., Takata, M., Iwamaru, Y., Imamura, M., Ushiki, Y.K., Shinagawa, M. (2005). The N-terminal cleavage site of PrPSc from BSE differs from that of PrPSc from scrapie. *Biochemical and biophysical research communications*, 328(4): 1024–1027. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.01.065.
481. Head, M.W., Yull, H.M., Ritchie, D.L., Langeveld, J.P., Fletcher, N.A., Knight, R.S., & Ironside, J.W. (2013). Variably protease-sensitive prionopathy in the UK: a retrospective review 1991-2008. *Brain : a journal of neurology*, 136(4): 1102–1115. doi: 10.1093/brain/aww366.
482. Heath, C.A., Cooper, S.A., Murray, K., Lowman, A., Henry, C., MacLeod, M.A., ... Will, R.G. (2010). Validation of diagnostic criteria for variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Annals of neurology*, 67(6): 761–770. doi: 10.1002/ana.21987.
483. Hedman, C., Bolea, R., Marín, B., Cobrière, F., Filali, H., Vazquez, F., ... Badiola, J.J. (2016). Transmission of sheep-bovine spongiform encephalopathy to pigs. *Veterinary research*, 47: 14. doi: 10.1186/s13567-015-0295-8.
484. Heikenwalder, M., Zeller, N., Seeger, H., Prinz, M., Klöhn, P.C., Schwarz, P., ... Aguzzi, A. (2005). Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5712): 1107–1110. doi: 10.1126/science.1106460.
485. Heggebø, R., Press, C.M., Gunnes, G., Inge Lie, K., Tranulis, M.A., Ulvund, M., Groschup, M.H., & Landsverk, T. (2000). Distribution of prion protein in the ileal Peyer's patch of scrapie-free lambs and lambs naturally and experimentally exposed to the scrapie agent. *The Journal of general virology*, 81(9): 2327–2337. doi: 10.1099/0022-1317-81-9-2327.
486. Heisey, D.M., Mickelsen, N.A., Schneider, J.R., Johnson, C.J., Johnson, C.J., Langenberg, J.A., ... Barr, D. J. (2010). Chronic wasting disease (CWD) susceptibility of several North American rodents that are sympatric with cervid CWD epidemics. *Journal of virology*, 84(1): 210–215. doi: 10.1128/JVI.00560-09.

487. Henderson, D.M., Davenport, K.A., Haley, N.J., Denkers, N.D., Mathiason, C.K., Hoover, E.A. (2015). Quantitative assessment of prion infectivity in tissues and body fluids by real-time quaking-induced conversion. *The Journal of general virology*, 96(1): 210–219. doi: 10.1099/vir.0.069906-0.
488. Henderson, D.M., Denkers, N.D., Hoover, C.E., Garbino, N., Mathiason, C.K., Hoover, E.A. (2015). Longitudinal Detection of Prion Shedding in Saliva and Urine by Chronic Wasting Disease-Infected Deer by Real-Time Quaking-Induced Conversion. *Journal of virology*, 89(18): 9338–9347. doi: 10.1128/JVI.01118-15.
489. Henderson, D.M., Manca, M., Haley, N.J., Denkers, N.D., Nalls, A.V., Mathiason, C.K., Caughey, B., Hoover, E. A. (2013). Rapid antemortem detection of CWD prions in deer saliva. *PloS one*, 8(9): e74377. doi: 10.1371/journal.pone.0074377.
490. Herbst, A., Velásquez, C.D., Triscott, E., Aiken, J.M., McKenzie, D. (2017). Chronic Wasting Disease Prion Strain Emergence and Host Range Expansion. *Emerging infectious diseases*, 23(9): 1598–1600. doi: 10.3201/eid2309.161474.
491. Hermann, P., Laux, M., Glatzel, M., Matschke, J., Knipper, T., Goebel, S., ... Zerr, I. (2018). Validation and utilization of amended diagnostic criteria in Creutzfeldt-Jakob disease surveillance. *Neurology*, 91(4): e331–e338. doi: 10.1212/WNL.0000000000005860.
492. Herms, J., Tings, T., Gall, S., Madlung, A., Giese, A., Siebert, H., ... Kretzschmar, H. (1999) Evidence of presynaptic location and function of the prion protein. *J Neuroscience*, 19(20): 8866–8875. doi: 10.1523/JNEUROSCI.19-20-08866.1999.
493. Herzog, C., Salès, N., Etchegaray, N., Charbonnier, A., Freire, S., Dormont, D., Deslys, J.P., Lasmézas, C.I. (2004). Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy agent in primates after intravenous or oral infection. *Lancet (London, England)*, 363(9407): 422–428. doi: 10.1016/S0140-6736(04)15487-1.
494. Hewicker-Trautwein, M., Bradley, R.: Portrait of transmissible feline spongiform encephalopathy. In: Prions in Humans and Animals, eds. Hornlimann B., Riesner D., and Kretzschmar H., pp. 271–274. Walter de Gruyter, Berlin, 2006.
495. Hibler, C.P., Wilson, K.L., Spraker, T.R., Miller, M.W., Zink, R.R., DeBuse, L.L., ... Powers, B. E. (2003). Field validation and assessment of an enzyme-linked immunosorbent assay for detecting chronic wasting disease in mule deer (*Odocoileus hemionus*), white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*), and Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*). *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 15(4): 311–319. doi: 10.1177/104063870301500402.

496. Hilbe, M.M., Soldati, G.G., Zlinszky, K.K., Wunderlin, S.S., Ehrensperger, F.F. (2009). Immunohistochemical study of PrP(Sc) distribution in neural and extraneural tissues of two cats with feline spongiform encephalopathy. *BMC veterinary research*, 5: 11. doi: 10.1186/1746-6148-5-11.

497. Hildebrandt H. Transmissible mink encephalopathy In: Kahn CM, Line S, Aiello SE, editors. The Merck veterinary manual [online]. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co; 2014. Available at: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/exotic\\_and\\_laboratory\\_animals/mink/prion\\_disease\\_of\\_mink.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/exotic_and_laboratory_animals/mink/prion_disease_of_mink.html). Accessed 1 Sept 2016.

498. Hill, A.F., Desbruslais, M., Joiner, S., Sidle, K.C., Gowland, I., Collinge, J., Doey, L.J., Lantos, P. (1997) The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature*, 389(6650): 448–450, 526. doi: 10.1038/38925.

499. Hill, A.F., Joiner, S., Linehan, J., Desbruslais, M., Lantos, P.L., Collinge, J. (2000). Species-barrier-independent prion replication in apparently resistant species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(18): 10248–10253. doi: 10.1073/pnas.97.18.10248.

500. Hill, A.F., Sidle, K.C., Joiner, S., Keyes, P., Martin, T.C., Dawson, M., Collinge, J. (1998). Molecular screening of sheep for bovine spongiform encephalopathy. *Neuroscience letters*, 255(3): 159–162. doi: 10.1016/s0304-3940(98)00736-8.

501. Hilton D.A. (2006). Pathogenesis and prevalence of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *The Journal of pathology*, 208(2): 134–141. doi: 10.1002/path.1880.

502. Hirose, K., Iwasaki, Y., Izumi, M., Yoshida, M., Hashizume, Y., Kitamoto, T., & Sahashi, K. (2006). MM2-thalamic-type sporadic Creutzfeldt-Jakob disease with widespread neocortical pathology. *Acta neuropathologica*, 112(4): 503–511. doi: 10.1007/s00401-006-0131-3.

503. Hizume, M., Kobayashi, A., Teruya, K., Ohashi, H., Ironside, J.W., Mohri, S., Kitamoto, T. (2009). Human prion protein (PrP) 219K is converted to PrPSc but shows heterozygous inhibition in variant Creutzfeldt-Jakob disease infection. *The Journal of biological chemistry*, 284(6): 3603–3609. doi: 10.1074/jbc.M809254200.

504. Hoffmann, C., Eiden, M., Kaatz, M., Keller, M., Ziegler, U., Rogers, R., ... Groschup, M.H. (2011). BSE infectivity in jejunum, ileum and ileocaecal junction of incubating cattle. *Veterinary research*, 42(1): 21. doi: 10.1186/1297-9716-42-21.

505. Hoinville, L.J., Tongue, S.C., Wilesmith, J.W. (2010). Evidence for maternal transmission of scrapie in naturally affected flocks. *Preventive veterinary medicine*, 93(2–3): 121–128. doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.10.013.

506. Holznagel, E., Yutzy, B., Kruip, C., Bierke, P., Schulz-Schaeffer, W., Löwer, J. (2015). Foodborne-Transmitted Prions From the Brain of Cows With Bovine Spongiform Encephalopathy Ascend in Afferent Neurons to the Simian



Central Nervous System and Spread to Tonsils and Spleen at a Late Stage of the Incubation Period. *The Journal of infectious diseases*, 212(9): 1459–1468. doi: 10.1093/infdis/jiv232.

507. Hooper N. (2005) Roles of proteolysis and lipid rafts in the processing of the amyloid precursor protein and prion protein. *Biochem Soc F Trans.*, 33: 335–338. doi: 10.1042/BST0330335.

508. Horby P. (2002). Variant Creutzfeldt-Jakob disease: an unfolding epidemic of misfolded proteins. *Journal of paediatrics and child health*, 38(6): 539–542. doi: 10.1046/j.1440-1754.2002.00055.x.

509. Horigan, V., Gale, P., Adkin, A., Konold, T., Cassar, C., Spiropoulos, J., & Kelly, L. (2020). Assessing the aggregated probability of entry of a novel prion disease agent into the United Kingdom. *Microbial risk analysis*, 16: 100134. doi: 10.1016/j.mran.2020.100134.

510. Hörnlimann, B., Riesner, D. and Kretschmar, H. (2006). Prions in Humans and Animals. Berlin: *De Gruyter*. Hull, D.L. 1980. *Individuality and selection*. *Annu. Rev. Ecol. Evol.* 11, 311-332.

511. Houston, F., & Andréoletti, O. (2019). Animal prion diseases: the risks to human health. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 29(2): 248–262. doi: 10.1111/bpa.12696.

512. Houston, F., & Andréoletti, O. (2018). The zoonotic potential of animal prion diseases. *Handbook of clinical neurology*, 153: 447–462. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00025-8.

513. Houston, F., Goldmann, W., Foster, J., González, L., Jeffrey, M., & Hunter, N. (2015). Comparative Susceptibility of Sheep of Different Origins, Breeds and PRNP Genotypes to Challenge with Bovine Spongiform Encephalopathy and Scrapie. *PloS one*, 10(11): e0143251. doi: 10.1371/journal.pone.0143251.

514. Houston, F., McCutcheon, S., Goldmann, W., Chong, A., Foster, J., Sisó, S., ... Hunter, N. (2008). Prion diseases are efficiently transmitted by blood transfusion in sheep. *Blood*, 112(12): 4739–4745. doi: 10.1182/blood-2008-04-152520.

515. Hsiao, K., Baker, H. F., Crow, T. J., Poulter, M., Owen, F., Terwilliger, J. D., ... Prusiner, S.B. (1989). Linkage of a prion protein missense variant to Gerstmann-Sträussler syndrome. *Nature*, 338(6213), 342–345. doi: 10.1038/338342a0.

516. Hsich, G., Kenney, K., Gibbs, C.J., Lee, K.H., Harrington, M.G. (1996). The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *The New England journal of medicine*, 335(13): 924–930. doi: 10.1056/NEJM199609263351303.

517. Hughes, D., Halliday, M. (2017). What Is Our Current Understanding of PrP<sup>Sc</sup>-Associated Neurotoxicity and Its Molecular Underpinnings?. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 6(4): 63. doi: 10.3390/pathogens6040063.

518. Hunter, N., Houston, F., Foster, J., Goldmann, W., Drummond, D., Parnham, D., ... Chong, A. (2012). Susceptibility of young sheep to oral infection with bovine spongiform encephalopathy decreases significantly after weaning. *Journal of virology*, 86(21): 11856–11862. doi: 10.1128/JVI.01573-12.
519. Hunter N. (2003). Scrapie and experimental BSE in sheep. *British medical bulletin*, 66, 171–183. doi: 10.1093/bmb/66.1.171.
520. Hussein, M.F., Al-Mufarrej, S.I. (2004) Prion Diseases: A Review; II. Prion Diseases in Man and Animals. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 5(2): 139–165.
521. Igel-Egalon, A., Béringue, V., Rezaei, H., Sibille, P. (2018). Prion Strains and Transmission Barrier Phenomena. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 7(1): 5. doi: 10.3390/pathogens7010005.
522. Imberdis, T., & Harris, D.A. (2016). Synthetic Prions Provide Clues for Understanding Prion Diseases. *The American journal of pathology*, 186(4): 761–764. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.12.005.
523. Imran, M., & Mahmood, S. (2011). An overview of animal prion diseases. *Virology journal*, 8: 493. doi: 10.1186/1743-422X-8-493.
524. Imran, M., Mahmood, S. (2011) An overview of human prion diseases. *Virol J.* 8: 559. doi: 10.1186/1743-422X-8-559.
525. Irani D.N. (2001) Johns Hopkins Department of Neurology. Resource on prion diseases [online]. Bovine spongiform encephalopathy. Available at: <http://www.jhu-prion.org/animal/ani-bse-hist.shtml>. \* Accessed 7 Nov 2001.
526. Irani D.N. (2001) Johns Hopkins Department of Neurology. Resource on prion diseases [online]. Feline spongiform encephalopathy. Available at: <http://www.jhu-prion.org/animal/anifse-hist.shtml>. \* Accessed 7 Nov 2001.
527. Irani D.N. Johns Hopkins Department of Neurology. Resource on prion diseases [online]. Transmissible mink encephalopathy. Available at: <http://www.jhu-prion.org/animal/anitme-hist.shtml>. \* Accessed 7 Nov., 2001.
528. Ironside, J.W., Head, M.W., McCordle, L., Knight, R. (2002). Neuropathology of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 62(3): 175–182.
529. Ironside J.W. (2002). Neuropathology of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Comptes rendus biologiques*, 325(1): 27–31. doi: 10.1016/s1631-0691(02)01381-1.
530. Irvine, G.B., El-Agnaf, O.M., Shankar, G.M., Walsh, D.M. (2008) Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Mol Med*, 14(7–8): 451–464. doi: 10.2119/2007-00100.
531. Iulini, B., Cantile, C., Mandara, M.T., Maurella, C., Loria, G.R., Castagnaro, M., ... Casalone, C. (2008). Neuropathology of italian cats in feline spongiform encephalopathy surveillance. *Veterinary pathology*, 45(5): 626–633. doi: 10.1354/vp.45-5-626.

532. Iwamaru, Y., Imamura, M., Matsuura, Y., Masujin, K., Shimizu, Y., Shu, Y., ... Yokoyama, T. (2010). Accumulation of L-type bovine prions in peripheral nerve tissues. *Emerging infectious diseases*, 16(7): 1151–1154. doi: 10.3201/eid1607.091882.

533. Iwasaki Y. (2017). Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 37(2): 174–188. doi: 10.1111/neup.12355.

534. Iwata, N., Sato, Y., Higuchi, Y., Nohtomi, K., Nagata, N., Hasegawa, H., ... Sata, T. (2006). Distribution of PrP(Sc) in cattle with bovine spongiform encephalopathy slaughtered at abattoirs in Japan. *Japanese journal of infectious diseases*, 59(2): 100–107.

535. Jackson, G.S., & Clarke, A.R. (2000). Mammalian prion proteins. *Current opinion in structural biology*, 10(1), 69–74. doi: 10.1016/s0959-440x(99)00051-2.

536. Jackson, G., Nurray, I., Hosszu, Gibbs N., Waltho, J., Clarke, A., Collinge, J. (2001) Location and properties of metal binding sites on the human prion protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98(15): 8531–8535. doi: 10.1073/pnas.151038498.

537. Jackson, W.S. (2014). Selective vulnerability to neurodegenerative disease: the curious case of Prion Protein. *Disease models & mechanisms*, 7(1): 21–29. doi: 10.1242/dmm.012146.

538. Jacobs, J.G., Sauer, M., van Keulen, L.J., Tang, Y., Bossers, A., & Langeveld, J.P. (2011). Differentiation of ruminant transmissible spongiform encephalopathy isolate types, including bovine spongiform encephalopathy and CH1641 scrapie. *The Journal of general virology*, 92(1): 222–232. doi: 10.1099/vir.0.026153-0.

539. Jacques, C.N., Jenks, J.A., Jenny, A.L., Griffin, S.L. (2003). Prevalence of chronic wasting disease and bovine tuberculosis in free-ranging deer and elk in South Dakota. *Journal of wildlife diseases*, 39(1): 29–34. doi: 10.7589/0090-3558-39.1.29.

540. Jansen, C., Head, M.W., van Gool, W.A., Baas, F., Yull, H., Ironside, J.W., & Rozemuller, A.J. (2010). The first case of protease-sensitive prionopathy (PSPr) in The Netherlands: a patient with an unusual GSS-like clinical phenotype. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 81(9): 1052–1055. doi: 10.1136/jnnp.2009.175646.

541. Jarrett, J.T., Lansbury, P.T., Jr. (1993) Seeding “one-dimensional crystallization” of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell*, 73(6): 1055–1058. doi: 10.1016/0092-8674(93)90635-4.

542. Jeffrey, M., González, L., Espenes, A., Press, C.M., Martin, S., Chaplin, M., ... McGovern, G. (2006). Transportation of prion protein across the intestinal mucosa of scrapie-susceptible and scrapie-resistant sheep. *The Journal of pathology*, 209(1): 4–14. doi: 10.1002/path.1962.

543. Jeffrey, M., Martin, S., González, L., Foster, J., Langeveld, J.P., van Zijderveld, F.G., Grassi, J., & Hunter, N. (2006). Immunohistochemical features of PrP(d) accumulation in natural and experimental goat transmissible spongiform encephalopathies. *Journal of comparative pathology*, 134(2–3): 171–181. doi: 10.1016/j.jcpa.2005.10.003.

544. Jeffrey, M., Witz, J. P., Martin, S., Hawkins, S. A., Bellworthy, S. J., Dexter, G. E., Thurston, L., González, L. (2015). Dynamics of the natural transmission of bovine spongiform encephalopathy within an intensively managed sheep flock. *Veterinary research*, 46: 126. doi: 10.1186/s13567-015-0269-x.

545. Jennelle, C.S., Samuel, M.D., Nolden, C.A., Keane, D.P., Barr, D.J., Johnson, C., ... Hoover, E.A. (2009). Surveillance for transmissible spongiform encephalopathy in scavengers of white-tailed deer carcasses in the chronic wasting disease area of Wisconsin. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 72(17–18): 1018–1024. doi: 10.1080/15287390903084249.

546. Jewell, J.E., Brown, J., Kreeger, T., Williams, E.S. (2006). Prion protein in cardiac muscle of elk (*Cervus elaphus nelsoni*) and white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) infected with chronic wasting disease. *The Journal of general virology*, 87(11): 3443–3450. doi: 10.1099/vir.0.81777-0.

547. Jiang, A.A., Longardner, K., Dickson, D., & Sell, R. (2019). Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome misdiagnosed as conversion disorder. *BMJ case reports*, 12(8): e229729. doi: 10.1136/bcr-2019-229729.

548. Jimenez-Huete, A., Lievens, P., Vidal, R., Piccardo, P., Ghetti, B., Tagliavini, F., Frangione, B., Prelli, F. (1998) Endogenous proteolytic cleavage of normal and disease-associated isoforms of the human prion protein in neural and non-neural tissues. *Am J Pathol.*, 153: 1561–1572. doi: 10.1016/S0002-9440(10)65744-6.

549. Johnson, R.T., Gibbs, C.J.Jr. (1998) Creutzfeldt-Jacob disease and related transmissible spongiform encephalopathies. *N. Engl. J. Med.* 339(27): 1994–2004. doi: 10.1056/NEJM199812313392707.

550. Johnson, C.J., Pedersen, J.A. Chappell, J.A., McKenzie, D., Aiken, J.M. (2007) Oral transmissibility of prion disease is enhanced by binding to soil particles. *PLoS Pathog*, 3(7):e93. doi: 10.1371/journal.ppat.0030093.

551. Jones, M., Peden, A. H., Prowse, C.V., Gröner, A., Manson, J.C., Turner, M.L., ... Head, M.W. (2007). In vitro amplification and detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease PrP<sup>Sc</sup>. *The Journal of pathology*, 213(1): 21–26. doi: 10.1002/path.2204.

552. Jucker, M., Walker, L.C. (2013) Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature*, 501(7465): 45–51. doi: 10.1038/nature12481.

553. Julien, J., Vital, C., Delisle, M.B., & Géraud, G. (1998). The French FFI cases. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(3): 555–558. doi: 10.1111/j.1750-3639.1998.tb00180.x.

554. Jung, G., Jones, G., Masison, D.C. (2002). Amino acid residue 184 of yeast Hsp104 chaperone is critical for prion-curing by guanidine, prion propagation, and thermotolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(15): 9936–9941. doi: 10.1073/pnas.152333299.

555. Kajava, A.V., Baxa, U., Wickner, R.B., Steven, A.C. (2004). A model for Ure2p prion filaments and other amyloids: the parallel superpleated beta-structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21): 7885–7890. doi: 10.1073/pnas.0402427101.

556. Kanata, E., Humphreys-Panagiotidis, C., Giadinis, N.D., Papaioannou, N., Arsenakis, M., Sklaviadis, T. (2014). Perspectives of a scrapie resistance breeding scheme targeting Q211, S146 and K222 caprine PRNP alleles in Greek goats. *Veterinary research*, 45(1): 43. doi: 10.1186/1297-9716-45-43.

557. Kaneko, K., Zulianello, L., Scott, M., Cooper, C.M., Wallace, A. C., James, T. L., Cohen, F.E., Prusiner, S.B. (1997). Evidence for protein X binding to a discontinuous epitope on the cellular prion protein during scrapie prion propagation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(19): 10069–10074. doi: 10.1073/pnas.94.19.10069.

558. Kariv-Inbal, Z., Ben-Hur, T., Grigoriadis, N.C., Engelstein, R., Gabizon, R. (2006). Urine from scrapie-infected hamsters comprises low levels of prion infectivity. *Neuro-degenerative diseases*, 3(3): 123–128. doi: 10.1159/000094770.

559. Katorcha, E., Makarava, N., Savtchenko, R., D’Azzo, A., Baskakov, I.V. (2014). Sialylation of prion protein controls the rate of prion amplification, the cross-species barrier, the ratio of PrPSc glycoform and prion infectivity. *PLoS pathogens*, 10(9): e1004366. doi: 10.1371/journal.ppat.1004366.

560. Kawasaki, Y., Kawagoe, K., Chen, C.J., Teruya, K., Sakasegawa, Y., Doh-ura, K. (2007). Orally administered amyloidophilic compound is effective in prolonging the incubation periods of animals cerebrally infected with prion diseases in a prion strain-dependent manner. *Journal of virology*, 81(23): 12889–12898. doi: 10.1128/JVI.01563-07.

561. Kazlauskaitė, J., Young, A., Gardner, C.E., Macpherson, J.V., Vénien-Bryan, C., Pinheiro, T.J. (2005). An unusual soluble beta-turn-rich conformation of prion is involved in fibril formation and toxic to neuronal cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 328(1): 292–305. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.12.172.

562. Keane, D., Barr, D., Osborn, R., Langenberg, J., O’Rourke, K., Schneider, D., Bochsler, P. (2009). Validation of use of rectoanal mucosa-associated lymphoid tissue for immunohistochemical diagnosis of chronic

wasting disease in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Journal of clinical microbiology*, 47(5): 1412–1417. doi: 10.1128/JCM.02209-08.

563. Kelly, D.F., Wells, G.A., Haritani, M., Higgins, R.J., Jeffrey, M. (2005). Neuropathological findings in cats with clinically suspect but histologically unconfirmed feline spongiform encephalopathy. *The Veterinary record*, 156(15): 472–477. doi: 10.1136/vr.156.15.472.

564. Khalifé, M., Young, R., Passet, B., Halliez, S., Vilotte, M., Jaffrezic, F., ... Vilotte, J.L. (2011). Transcriptomic analysis brings new insight into the biological role of the prion protein during mouse embryogenesis. *PLoS one*, 6(8): e23253. doi: 10.1371/journal.pone.0023253.

565. Kim, H.H., Kim, Y.C., Kim, K., Kim, A.D., & Jeong, B.H. (2020). Novel Polymorphisms and Genetic Features of the Prion Protein Gene (*PRNP*) in Cats, Hosts of Feline Spongiform Encephalopathy. *Genes*, 12(1): 13. doi: 10.3390/genes12010013.

566. Kim, T.Y., Shon, H.J., Joo, Y.S., Mun, U.K., Kang, K.S., Lee, Y.S. (2005). Additional cases of Chronic Wasting Disease in imported deer in Korea. *The Journal of veterinary medical science*, 67(8): 753–759. doi: 10.1292/jvms.67.753.

567. Kimberlin, R.H., Walker, C. (1977) Characteristics of a short incubation model of scrapie in the golden hamster. *J Gen Virol.*, 34(2): 295–304. doi: 10.1099/0022-1317-34-2-295.

568. Kimberlin, R.H., Walker, C.A. (1978). Evidence that the transmission of one source of scrapie agent to hamsters involves separation of agent strains from a mixture. *The Journal of general virology*, 39(3): 487–496. doi: 10.1099/0022-1317-39-3-487.

569. Kimberlin, R.H., Walker, C.A. (1979). Pathogenesis of mouse scrapie: dynamics of agent replication in spleen, spinal cord and brain after infection by different routes. *Journal of comparative pathology*, 89(4): 551–562. doi: 10.1016/0021-9975(79)90046-x.

570. Kimberlin, R.H., Walker, C.A., Fraser, H. (1989). The genomic identity of different strains of mouse scrapie is expressed in hamsters and preserved on reisolation in mice. *The Journal of general virology*, 70 (8): 2017–2025. doi: 10.1099/0022-1317-70-8-2017.

571. Kimura, K., Haritani, M. (2008). Distribution of accumulated prion protein in a cow with bovine spongiform encephalopathy. *The Veterinary record*, 162(25): 822–825. doi: 10.1136/vr.162.25.822.

572. King, C.Y., Diaz-Avalos, R. (2004). Protein-only transmission of three yeast prion strains. *Nature*, 428(6980): 319–323. doi: 10.1038/nature02391.

573. King, O.D., Gitler, A.D., Shorter, J. (2012) The tip of the iceberg: RNA-binding proteins with prion-like domains in neurodegenerative disease. *Brain Res.*, 1462: 61–80. doi: 10.1016/j.brainres.2012.01.016.

574. Kirkwood, J.K., & Cunningham, A.A. (1994). Epidemiological observations on spongiform encephalopathies in captive wild animals in the British Isles. *The Veterinary record*, 135(13): 296–303. doi: 10.1136/vr.135.13.296.

575. Kirkwood, J.K., Cunningham, A.A., Austin, A.R., Wells, G.A., Sainsbury, A.W. (1994). Spongiform encephalopathy in a greater kudu (*Tragelaphus strepsiceros*) introduced into an affected group. *The Veterinary record*, 134(7): 167–168. doi: 10.1136/vr.134.7.167.

576. Kirkwood, J.H., G.A.H. Wells, J.W. Wilesmith, A.A. Cunningham and S.I. Jackson (1990). Spongiform encephalopathy in an Arabian oryx (*Oryx leucoryx*) and a greater kudu (*Trangelaphus strepsicoeros*). *Vet. Rec.*, 127: 418–420.

577. Kishimoto, A., Hasegawa, K., Suzuki, H., Taguchi, H., Namba, K., Yoshida, M. (2004). beta-Helix is a likely core structure of yeast prion Sup35 amyloid fibers. *Biochemical and biophysical research communications*, 315(3): 739–745. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.01.117.

578. Kittelberger, R., Chaplin, M.J., Simmons, M.M., Ramirez-Villaescusa, A., McIntyre, L., MacDiarmid, S.C., ... O'Keefe, J.S. (2010). Atypical scrapie/Nor98 in a sheep from New Zealand. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 22(6): 863–875. doi: 10.1177/104063871002200604.

579. Klein, M.A., Kaeser, P.S., Schwarz, P., Weyd, H., Xenarios, I., Zinkernagel, R.M., ... Aguzzi, A. (2001). Complement facilitates early prion pathogenesis. *Nature medicine*, 7(4), 488–492. doi: 10.1038/86567.

580. Klöhn, P-C., Stoltze, L., Flechsig, E., Enari, M., Weissmann, C. (2003) A quantitative, highly sensitive cell-based infectivity assay for mouse scrapie prions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(20): b11666–71. doi: 10.1073/pnas.1834432100.

581. Kochneva-Pervukhova, N.V., Poznyakovski, A.I., Smirnov, V.N., Ter-Avanesyan, M.D. (1998). C-terminal truncation of the Sup35 protein increases the frequency of de novo generation of a prion-based [PSI+] determinant in *Saccharomyces cerevisiae*. *Current genetics*, 34(2): 146–151.

582. Kochneva-Pervukhova, N.V., Chechenova, M.B., Valouev, I.A., Kushnirov, V.V., Smirnov, V.N., Ter-Avanesyan, M. D. (2001). [Psi(+)] prion generation in yeast: characterization of the 'strain' difference. *Yeast (Chichester, England)*, 18(6): 489–497. doi:10.1002/yea.700.

583. Kondratenko, Yu. (2015) Mutatsiya, zaschischayuschaya ot vseh izvestnyih prionnyih bolezney. *Biomolekula*, 09.07.

584. Kong, Q., Huang, S., Zou, W., Vanegas, D., Wang, M., Wu, D., ... Gambetti, P. (2005). Chronic wasting disease of elk: transmissibility to humans examined by transgenic mouse models. *The Journal of neuroscience : the official*

*journal of the Society for Neuroscience*, 25(35): 7944–7949. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2467-05.2005.

585. Konold, T., Bone, G.E., Clifford, D., Chaplin, M.J., Cawthraw, S., Stack, M.J., Simmons, M.M. (2012). Experimental H-type and L-type bovine spongiform encephalopathy in cattle: observation of two clinical syndromes and diagnostic challenges. *BMC veterinary research*, 8: 22. doi: 10.1186/1746-6148-8-22.

586. Konold, T., Bone, G.E., Phelan, L.J., Simmons, M.M., González, L., Sisó, S., ... Hawkins, S. A. (2010). Monitoring of clinical signs in goats with transmissible spongiform encephalopathies. *BMC veterinary research*, 6: 13. doi: 10.1186/1746-6148-6-13.

587. Konold, T., Bone, G., Ryder, S., Hawkins, S. A., Courtin, F., Berthelin-Baker, C. (2004). Clinical findings in 78 suspected cases of bovine spongiform encephalopathy in Great Britain. *The Veterinary record*, 155(21): 659–666. doi: 10.1136/vr.155.21.659.

588. Konold, T., Bone, G., Vidal-Diez, A., Tortosa, R., Davis, A., Dexter, G., ... Berthelin-Baker, C. (2008). Pruritus is a common feature in sheep infected with the BSE agent. *BMC veterinary research*, 4: 16. doi: 10.1186/1746-6148-4-16.

589. Konold, T., Davis, A., Bone, G., Bracegirdle, J., Everitt, S., Chaplin, M., ... Simmons, M.M. (2007). Clinical findings in two cases of atypical scrapie in sheep: a case report. *BMC veterinary research*, 3: 2. doi: 10.1186/1746-6148-3-2.

590. Konold, T., Hawkins, S.A., Thurston, L.C., Maddison, B.C., Gough, K.C., Duarte, A., & Simmons, H.A. (2015). Objects in Contact with Classical Scrapie Sheep Act as a Reservoir for Scrapie Transmission. *Frontiers in veterinary science*, 2: 32. doi: 10.3389/fvets.2015.00032.

591. Konold, T., Moore, S.J., Bellworthy, S.J., Simmons, H.A. (2008). Evidence of scrapie transmission via milk. *BMC veterinary research*, 4: 14. doi: 10.1186/1746-6148-4-14.

592. Konold, T., Moore, S.J., Bellworthy, S.J., Terry, L.A., Thorne, L., Ramsay, A., ... Simmons, H.A. (2013). Evidence of effective scrapie transmission via colostrum and milk in sheep. *BMC veterinary research*, 9: 99. doi: 10.1186/1746-6148-9-99.

593. Konold, T., Phelan, L. (2014). Clinical examination protocol to detect atypical and classical scrapie in sheep. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (83), e51101. doi: 10.3791/51101.

594. Konold, T., Spiropoulos, J., Chaplin, M.J., Stack, M.J., Hawkins, S.A., Wilesmith, J.W., Wells, G.A. (2013). Unsuccessful oral transmission of scrapie from British sheep to cattle. *The Veterinary record*, 173(5): 118. doi: 10.1136/vr.101286.



595. Konold, T., Spiropoulos, J., Chaplin, M.J., Thorne, L., Spencer, Y. I., Wells, G.A., Hawkins, S.A. (2009). Transmissibility studies of vacuolar changes in the rostral colliculus of pigs. *BMC veterinary research*, 5: 35. doi: 10.1186/1746-6148-5-35.

596. Konold, T., Thorne, L., Simmons, H.A., Hawkins, S.A., Simmons, M.M., González, L. (2016). Evidence of scrapie transmission to sheep via goat milk. *BMC veterinary research*, 12: 208. doi: 10.1186/s12917-016-0807-4.

597. Korth, C., May, B., Cohen, F., Prusiner, S. (2001) Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease. *Proc Natl Acad Sci.*, 98(17): 9836–9841. doi: 10.1073/pnas.161274798.

598. Korth, C., Peters, P. (2006) Emerging pharmacotherapies for Creutzfeldt-Jakob disease. *Arch Neurol.*, 63(4): 497–501. doi:10.1001/archneur.63.4.497.

599. Korth, C., Stierli, B., Streit, P., Moser, M., Schaller, O., Fischer, R., ... Oesch, B. (1997). Prion (PrPSc)-specific epitope defined by a monoclonal antibody. *Nature*, 390(6655): 74–77. doi: 10.1038/36337.

600. Kotsar O.V. (2018) Priony i prionni khvoroby: suchasnyi pohliad na problemu. Eksperymentalna i klinichna medytsyna, 2–3 (79–80): 17–23.

601. Kovács, G.G., Trabattoni, G., Hainfellner, J.A., Ironside, J.W., Knight, R.S., Budka, H. (2002). Mutations of the prion protein gene phenotypic spectrum. *Journal of neurology*, 249(11): 1567–1582. doi: 10.1007/s00415-002-0896-9.

602. Kovács, G.G., Puopolo, M., Ladogana, A., Pocchiari, M., Budka, H., van Duijn, C., ... Mitrova, E. (2005). Genetic prion disease: the EUROCDJ experience. *Human genetics*, 118(2): 166–174. doi: 10.1007/s00439-005-0020-1.

603. Kozak, M.R., Stoika, R.S., Kit, Yu.Ia., Vlizlo, V.V. (2010) Transmisivni sponhiformni entsefalopatii: zahalna kharakterystyka, teorii rozvytku i biolohichni modeli doslidzhennia. *Biolohiia tvaryn*, 12(1): 24–36.

604. Krasnianski, A., Bartl, M., Sanchez Juan, P.J., Heinemann, U., Meissner, B., Varges, D., ... Zerr, I. (2008). Fatal familial insomnia: Clinical features and early identification. *Annals of neurology*, 63(5): 658–661. doi: 10.1002/ana.21358.

605. Krasnianski, A., Heinemann, U., Ponto, C., Kortt, J., Kallenberg, K., Varges, D., ... Zerr, I. (2016). Clinical findings and diagnosis in genetic prion diseases in Germany. *European journal of epidemiology*, 31(2): 187–196. doi: 10.1007/s10654-015-0049-y.

606. Krasnianski, A., Sanchez Juan, P., Ponto, C., Bartl, M., Heinemann, U., Varges, D., ... Zerr, I. (2014). A proposal of new diagnostic pathway for fatal familial insomnia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 85(6): 654–659. doi: 10.1136/jnnp-2013-305978.

607. Krautler, N.J., Kana, V., Kranich, J., Tian, Y., Perera, D., Lemm, D., ... Aguzzi, A. (2012). Follicular dendritic cells emerge from ubiquitous perivascular precursors. *Cell*, 150(1): 194–206. doi: 10.1016/j.cell.2012.05.032.
608. Kreeger T. (2003) Distribution and status of chronic wasting disease in Wyoming [abstract]. In: National chronic wasting disease symposium [online]. 2002 Aug 6-7; Denver, CO. Available at: [http://www.cwd-info.org/index.php/fuseaction/resources.symposiumAbstracts/#23.\\*](http://www.cwd-info.org/index.php/fuseaction/resources.symposiumAbstracts/#23.*) Accessed 22 Nov 2003.
609. Kreeger, T.J., Montgomery, D.L., Jewell, J.E., Schultz, W., Williams, E.S. (2006). Oral transmission of chronic wasting disease in captive Shira's moose. *Journal of wildlife diseases*, 42(3): 640–645. doi: 10.7589/0090-3558-42.3.640.
610. Kretzschmar, H.A., Honold, G., Seitelberger, F., Feucht, M., Wessely, P., Mehraein, P., Budka, H. (1991). Prion protein mutation in family first reported by Gerstmann, Strüssler, and Scheinker. *Lancet (London, England)*, 337(8750): 1160. doi: 10.1016/0140-6736(91)92826-n.
611. Kretzschmar, H.A., Stowring, L.E., Westaway, D., Stubblebine, W.H., Prusiner, S.B., Dearmond, S.J. (1986). Molecular cloning of a human prion protein cDNA. *DNA (Mary Ann Liebert, Inc.)*, 5(4): 315–324. doi: 10.1089/dna.1986.5.315.
612. Kretzschmar, H., Tings, T., Madlung, A., Giese, A., Herms, J. (2000) Function of PrPc as a copper binding protein at the synapse. *Arch of Virol Suppl.*, 1(16): 239–249. doi: 10.1007/978-3-7091-6308-5\_23.
613. Krishnan, R., Lindquist, S.L. (2005). Structural insights into a yeast prion illuminate nucleation and strain diversity. *Nature*, 435(7043): 765–772. doi: 10.1038/nature03679.
614. Kryndushkin, D.S., Alexandrov, I.M., Ter-Avanesyan, M.D., Kushnirov, V.V. (2003). Yeast [PSI<sup>+</sup>] prion aggregates are formed by small Sup35 polymers fragmented by Hsp104. *The Journal of biological chemistry*, 278(49): 49636–49643. doi: 10.1074/jbc.M307996200.
615. Kubosaki, A., Yusa, S., Nasu, Y., Nishimura, T., Nakamura, Y., Saeki, K., ... Onodera, T. (2001) Distribution of cellular isoform of prion protein in T lymphocytes and bone marrow, analyzed by wild-type and prion protein gene-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 282: 103–107. doi: 10.1006/bbrc.2001.4538.
616. Kumagai, S., Daikai, T., & Onodera, T. (2019). Bovine Spongiform Encephalopathy – A Review from the Perspective of Food Safety. *Food safety (Tokyo, Japan)*, 7(2): 21–47. doi: 10.14252/foodsafetyfscj.2018009.
617. Kumar, V., Abbas, A., Aster, J. (2014) *Purchase Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease – 9th Edition. Print Book & E-Book. Robbins Pathology*, 1408 p., ISBN 9781455726134, 9780323296359.

618. Kurt, T.D., Perrott, M.R., Wilusz, C.J., Wilusz, J., Supattapone, S., Telling, G.C., Zabel, M.D., Hoover, E.A. (2007). Efficient in vitro amplification of chronic wasting disease PrPRES. *Journal of virology*, 81(17): 9605–9608. doi: 10.1128/JVI.00635-07.
619. Kurt, T.D., Jiang, L., Fernández-Borges, N., Bett, C., Liu, J., Yang, T., ... Sigurdson, C. J. (2015). Human prion protein sequence elements impede cross-species chronic wasting disease transmission. *The Journal of clinical investigation*, 125(4): 1485–1496. doi: 10.1172/JCI79408.
620. Kurt, T.D., Sigurdson, C.J. (2016). Cross-species transmission of CWD prions. *Prion*, 10(1): 83–91. doi: 10.1080/19336896.2015.1118603.
621. Kushnirov, V.V., Ter-Avanesyan, M.D. (1998). Structure and replication of yeast prions. *Cell*, 94(1): 13–16. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81216-7.
622. Kushnirov, V.V., Kryndushkin, D.S., Boguta, M., Smirnov, V.N., Ter-Avanesyan, M.D. (2000). Chaperones that cure yeast artificial [PSI<sup>+</sup>] and their prion-specific effects. *Current biology: CB*, 10(22): 1443–1446. doi: 10.1016/s0960-9822(00)00802-2.
623. Kushnirov, V. (2012) 10 faktov o prionah i amiloidah. *Gazeta "Troitskiy variant"*, 16(110), 14.08.2012.
624. Kuwahara, C., Takeuchi, A.M., Nishimura, T., Haraguchi, K., Kubosaki, A., Matsumoto, Y., ... Onodera, T. (1999). Prions prevent neuronal cell-line death. *Nature*, 400(6741): 225–226. doi: 10.1038/22241.
625. Kuznetsova, A., Cullingham, C., McKenzie, D., Judd M Aiken (2018) Soil humic acids degrade CWD prions and reduce infectivity. *PLoS Pathog*, 14(11): e1007414. doi: 10.1371/journal.ppat.1007414.
626. Lacroux, C., Comoy, E., Moudjou, M., Perret-Liaudet, A., Lugan, S., Litaise, C., ... Andréoletti, O. (2014). Preclinical detection of variant CJD and BSE prions in blood. *PLoS pathogens*, 10(6): e1004202. doi: 10.1371/journal.ppat.1004202.
627. Lacroux, C., Corbière, F., Tabouret, G., Lugan, S., Costes, P., Mathey, J., ... Andréoletti, O. (2007). Dynamics and genetics of PrP<sup>Sc</sup> placental accumulation in sheep. *The Journal of general virology*, 88(3): 1056–1061. doi: 10.1099/vir.0.82218-0.
628. Lacroux, C., Simon, S., Benestad, S.L., Maillet, S., Mathey, J., Lugan, S., ... Andréoletti, O. (2008). Prions in milk from ewes incubating natural scrapie. *PLoS pathogens*, 4(12): e1000238. doi: 10.1371/journal.ppat.1000238.
629. Laegreid, W.W., Clawson, M.L., Heaton, M.P., Green, B.T., O'Rourke, K. I., Knowles, D.P. (2008). Scrapie resistance in ARQ sheep. *Journal of virology*, 82(20): 10318–10320. doi: 10.1128/JVI.00710-08.
630. LaFauci, G., Carp, R.I., Meeker, H.C., Ye, X., Kim, J.I., Natelli, M., ... Rubenstein, R. (2006). Passage of chronic wasting disease prion into

transgenic mice expressing Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) PrP<sup>C</sup>. *The Journal of general virology*, 87(12): 3773–3780. doi: 10.1099/vir.0.82137-0.

631. Laferrière, F., Tixador, P., Moudjou, M., Chapuis, J., Sibille, P., Herzog, L., ... Béringue, V. (2013). Quaternary structure of pathological prion protein as a determining factor of strain-specific prion replication dynamics. *PLoS pathogens*, 9(10): e1003702. doi: 10.1371/journal.ppat.1003702.

632. Lalayants, I.E. (2011) Solntse vshodit i zahodit. *Himiya i zhizn*, 6: 28–32.

633. Langeveld, J.P., Jacobs, J.G., Erkens, J.H., Baron, T., Andréoletti, O., Yokoyama, T., ... Bossers, A. (2014). Sheep prions with molecular properties intermediate between classical scrapie, BSE and CH1641-scrapie. *Prion*, 8(4): 296–305. doi: 10.4161/19336896.2014.983396.

634. Langeveld, J.P., Jacobs, J.G., Erkens, J.H., Bossers, A., van Zijderveld, F.G., van Keulen, L.J. (2006). Rapid and discriminatory diagnosis of scrapie and BSE in retro-pharyngeal lymph nodes of sheep. *BMC veterinary research*, 2: 19. doi: 10.1186/1746-6148-2-19.

635. Lasmézas, C.I., Comoy, E., Hawkins, S., Herzog, C., Mouthon, F., Konold, T., ... Deslys, J.P. (2005). Risk of oral infection with bovine spongiform encephalopathy agent in primates. *Lancet (London, England)*, 365(9461): 781–783. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17985-9.

636. Lasmezas C. (2003) Putative Functions of PrP<sup>C</sup>. *Br Med Bulletin*, 66: 61–70. doi: 10.1093/bmb/66.1.61.

637. Laurén, J., Gimbel, D.A., Nygaard, H.B., Gilbert, J.W., Strittmatter, S.M. (2009) Cellular prion protein mediates impairment of synaptic plasticity by amyloid-beta oligomers. *Nature*, 457(7233): 1128–1132. doi: 10.1038/nature07761.

638. Laurent, M. (1996). Prion diseases and the 'protein only' hypothesis: a theoretical dynamic study. *The Biochemical journal*, 318(1): 35–39. doi: 10.1042/bj3180035.

639. Le Dur, A., Béringue, V., Andréoletti, O., Reine, F., Laï, T.L., Baron, T., ... Laude, H. (2005). A newly identified type of scrapie agent can naturally infect sheep with resistant PrP genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(44): 16031–16036. doi: 10.1073/pnas.0502296102.

640. Le Dur, A., Laï, T.L., Stinnakre, M.G., Laisné, A., Chenais, N., Rakotobe, S., ... Laude, H. (2017). Divergent prion strain evolution driven by PrP<sup>C</sup> expression level in transgenic mice. *Nature communications*, 8: 14170. doi: 10.1038/ncomms14170.

641. Lee, C.I., Yang, Q., Perrier, V., Baskakov, I.V. (2007). The dominant-negative effect of the Q218K variant of the prion protein does not require protein X. *Protein science : a publication of the Protein Society*, 16(10): 2166–2173. doi: 10.1110/ps.072954607.

642. Lee, S., Kim, H.-J. (2015) Prion-like Mechanism in Amyotrophic Lateral Sclerosis: are Protein Aggregates the Key? *Exp Neurobiol.*, 24(1): 1–7. doi: 10.5607/en.2015.24.1.1.
643. Lee, Y.H., Sohn, H.J., Kim, M.J., Kim, H.J., Park, K.J., Lee, W.Y., ... Balachandran, A. (2013). Experimental chronic wasting disease in wild type VM mice. *The Journal of veterinary medical science*, 75(8): 1107–1110. doi: 10.1292/jvms.13-0018.
644. Legname, G., Baskakov, I.V., Nguyen, H.O., Riesner, D., Cohen, F.E., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B. (2004) Synthetic mammalian prions. *Science*, 305(5684): 673–676. doi: 10.1126/science.1100195.
645. Lehmann, S., Pastore, M., Rogez-Kreuz, C., Richard, M., Belondrade, M., Rauwel, G., ... Perret-Liaudet, A. (2009). New hospital disinfection processes for both conventional and prion infectious agents compatible with thermosensitive medical equipment. *The Journal of hospital infection*, 72(4): 342–350. doi: 10.1016/j.jhin.2009.03.024.
646. Lezmi, S., Baron, T.G., Bencsik, A.A. (2010). Is the presence of abnormal prion protein in the renal glomeruli of feline species presenting with FSE authentic? *BMC veterinary research*, 6: 41. doi: 10.1186/1746-6148-6-41.
647. Lezmi, S., Bencsik, A., Monks, E., Petit, T., Baron, T. (2003). First case of feline spongiform encephalopathy in a captive cheetah born in France: PrP(sc) analysis in various tissues revealed unexpected targeting of kidney and adrenal gland. *Histochemistry and cell biology*, 119(5): 415–422. doi: 10.1007/s00418-003-0524-5.
648. Lezmi, S., Martin, S., Simon, S., Comoy, E., Bencsik, A., Deslys, J.P., ... Baron, T. (2004). Comparative molecular analysis of the abnormal prion protein in field scrapie cases and experimental bovine spongiform encephalopathy in sheep by use of Western blotting and immunohistochemical methods. *Journal of virology*, 78(7): 3654–3662. doi: 10.1128/jvi.78.7.3654-3662.2004.
649. Liao, Y.C., Lebo, R.V., Clawson, G.A., Smuckler, E.A. (1986). Human prion protein cDNA: molecular cloning, chromosomal mapping, and biological implications. *Science (New York, N.Y.)*, 233(4761): 364–367. doi: 10.1126/science.3014653.
650. Liberski, P.P., & Budka, H. (2004). Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. I. Human diseases. *Folia neuropathologica*, 42 (B): 120–140.
651. Liberski, P.P., Sikorska, B., Lindenbaum, S., Goldfarb, L.G., McLean, C., Hainfellner, J.A., & Brown, P. (2012). Kuru: genes, cannibals and neuropathology. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 71(2): 92–103. doi: 10.1097/NEN.0b013e3182444efd.
652. Ligios, C., Cancedda, M.G., Carta, A., Santucciu, C., Maestrale, C., Demontis, F., ... Sigurdson, C.J. (2011). Sheep with scrapie and mastitis

transmit infectious prions through the milk. *Journal of virology*, 85(2): 1136–1139. doi: 10.1128/JVI.02022-10.

653. Lledo, P., Tremblay, P., DeArmond, S., Prusiner, S., Nicoll, R. (1996) Mice deficient for prion protein exhibit normal neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93: 2403–2407. doi: org/10.1073/pnas.93.6.2403.

654. Li, J., Browning, S., Mahal, S.P., Oelschlegel, A.M., Weissmann, C. (2010) Darwinian evolution of prions in cell culture. *Science*, 327(5967):869–872. doi: 10.1126/science.1183218.

655. Li, J., Mahal, S.P., Demczyk, C.A., Weissmann, C. (2011) Mutability of prions. *EMBO Rep.*, 12(12): 1243–1250. doi: 10.1038/embor.2011.191.

656. Linden, R., Martins, V., Prado, M., Cammarota, M., Izquiero, I., Brentani, R. (2008) Physiology of the prion protein. *Physiol Rev.*, 88: 673–728. doi: 10.1152/physrev.00007.2007.

657. Lindquist S. (1997). Mad cows meet psi-chotic yeast: the expansion of the prion hypothesis. *Cell*, 89(4), 495–498. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80231-7.

658. Liu, J.J., Lindquist, S. (1999). Oligopeptide-repeat expansions modulate 'protein-only' inheritance in yeast. *Nature*, 400(6744): 573–576. doi: 10.1038/23048.

659. Loiacono, C.M., Thomsen, B.V., Hall, S.M., Kiupel, M., Sutton, D., O'Rourke, K., ... Keane, D. (2009). Nor98 scrapie identified in the United States. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(4): 454–463. doi: 10.1177/104063870902100406.

660. Lopes, M.H., Hajj, G.N., Muras, A.G., Mancini, G.L., Castro, R.M., Ribeiro, K.C., ... Martins, V. R. (2005). Interaction of cellular prion and stress-inducible protein 1 promotes neuritogenesis and neuroprotection by distinct signaling pathways. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 25(49): 11330–11339. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2313-05.2005.

661. Lopez, N., Aron, R., Craig, E. A. (2003). Specificity of class II Hsp40 Sis1 in maintenance of yeast prion [RNQ+]. *Molecular biology of the cell*, 14(3): 1172–1181. doi: 10.1091/mbc.e02-09-0593.

662. Lötscher, M., Recher, M., Hunziker, L., Klein, M.A. (2003). Immunologically induced, complement-dependent up-regulation of the prion protein in the mouse spleen: follicular dendritic cells versus capsule and trabeculae. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 170(12): 6040–6047. doi: 10.4049/jimmunol.170.12.6040.

663. Loubet, D., Dakowski, C., Pietri, M., Pradines, E., Bernard, S., Callebert, J., ... Schneider, B. (2012). Neuritogenesis: the prion protein controls  $\beta 1$  integrin signaling activity. *FASEB journal : official publication of the*

*Federation of American Societies for Experimental Biology*, 26(2): 678–690. doi: 10.1096/fj.11-185579.

664. Low, J.C., Chambers, J., McKelvey, W.A., McKendrick, I.J., Jeffrey, M. (2009). Failure to transmit scrapie infection by transferring preimplantation embryos from naturally infected donor sheep. *Theriogenology*, 72(6): 809–816. doi: 10.1016/j.theriogenology.2009.05.017.

665. Lowenstein, D.H., Butler, D.A., Westaway, D., McKinley, M.P., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B. (1990). Three hamster species with different scrapie incubation times and neuropathological features encode distinct prion proteins. *Molecular and cellular biology*, 10(3): 1153–1163. doi: 10.1128/mcb.10.3.1153-1163.1990.

666. Ludlam, C.A., Turner, M.L. (2006). Managing the risk of transmission of variant Creutzfeldt Jakob disease by blood products. *British journal of haematology*, 132(1): 13–24. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05796.x.

667. Lugaresi, A., Baruzzi, A., Cacciari, E., Cortelli, P., Medori, R., Montagna, P., ... Lugaresi, E. (1987). Lack of vegetative and endocrine circadian rhythms in fatal familial thalamic degeneration. *Clinical endocrinology*, 26(5): 573–580. doi: 10.1111/j.1365-2265.1987.tb00812.x.

668. Lugaresi, E., Medori, R., Montagna, P., Baruzzi, A., Cortelli, P., Lugaresi, A., ... Gambetti, P. (1986). Fatal familial insomnia and dysautonomia with selective degeneration of thalamic nuclei. *The New England journal of medicine*, 315(16): 997–1003. doi: 10.1056/NEJM198610163151605.

669. Lugaresi, E., Tobler, I., Gambetti, P., & Montagna, P. (1998). The pathophysiology of fatal familial insomnia. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(3): 521–526. doi: 10.1111/j.1750-3639.1998.tb00173.x.

670. Lühken, G., Buschmann, A., Brandt, H., Eiden, M., Groschup, M.H., Erhardt, G. (2007). Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases. *Veterinary research*, 38(1): 65–80. doi: 10.1051/vetres:2006046.

671. Lukic, A., Mead, S. (2011). Genome wide association studies and prion disease. *Prion*, 5(3): 154–160. doi: 10.4161/pri.5.3.16892.

672. Lu, Y., Chen, C., Zhang, B.Y., Xiao, K., Wang, J., Chen, L.N., ... Dong, X.P. (2015). Remarkable Activation of the Complement System and Aberrant Neuronal Localization of the Membrane Attack Complex in the Brain Tissues of Scrapie-Infected Rodents. *Molecular neurobiology*, 52(3): 1165–1179. doi: 10.1007/s12035-014-8915-2.

673. Mabbott, N.A., & Bruce, M.E. (2002). Follicular dendritic cells as targets for intervention in transmissible spongiform encephalopathies. *Seminars in immunology*, 14(4): 285–293. doi: 10.1016/s1044-5323(02)00061-1.

674. Mabbott, N.A., Bruce, M.E., Botto, M., Walport, M.J., & Pepys, M.B. (2001). Temporary depletion of complement component C3 or genetic

deficiency of C1q significantly delays onset of scrapie. *Nature medicine*, 7(4): 485–487. doi: 10.1038/86562.

675. Mabbott, N.A., Young, J., McConnell, I., & Bruce, M.E. (2003). Follicular dendritic cell dedifferentiation by treatment with an inhibitor of the lymphotoxin pathway dramatically reduces scrapie susceptibility. *Journal of virology*, 77(12): 6845–6854. doi: 10.1128/jvi.77.12.6845-6854.2003.

676. Maddison, B.C., Baker, C.A., Rees, H.C., Terry, L.A., Thorne, L., Bellworthy, S.J., Whitlam, G.C., Gough, K.C. (2009). Prions are secreted in milk from clinically normal scrapie-exposed sheep. *Journal of virology*, 83(16): 8293–8296. doi: 10.1128/JVI.00051-09.

677. Maddison, B.C., Baker, C.A., Terry, L.A., Bellworthy, S.J., Thorne, L., Rees, H.C., Gough, K.C. (2010). Environmental sources of scrapie prions. *Journal of virology*, 84(21): 11560–11562. doi: 10.1128/JVI.01133-10.

678. Maddison, B.C., Owen, J.P., Bishop, K., Shaw, G., Rees, H.C., Gough, K.C. (2010). The interaction of ruminant PrP(Sc) with soils is influenced by prion source and soil type. *Environmental science & technology*, 44(22): 8503–8508. doi: 10.1021/es101591a.

679. Maddison, B.C., Rees, H.C., Baker, C.A., Taema, M., Bellworthy, S.J., Thorne, L., Terry, L.A., Gough, K.C. (2010). Prions are secreted into the oral cavity in sheep with preclinical scrapie. *The Journal of infectious diseases*, 201(11): 1672–1676. doi: 10.1086/652457.

680. Maestrale, C., Cancedda, M.G., Pintus, D., Masia, M., Nonno, R., Ru, G., ... Ligios, C. (2015). Genetic and Pathological Follow-Up Study of Goats Experimentally and Naturally Exposed to a Sheep Scrapie Isolate. *Journal of virology*, 89(19): 10044–10052. doi: 10.1128/JVI.01262-15.

681. Magnusson, K., Simon, R., Sjölander, D., Sigurdson, C. J., Hammarström, P., Nilsson, K. P. (2014). Multimodal fluorescence microscopy of prion strain specific PrP deposits stained by thiophene-based amyloid ligands. *Prion*, 8(4): 319–329. doi: 10.4161/pri.29239.

682. Mahal, S.P., Baker, C.A., Demczyk, C.A., Smith, E.W., Julius, C., Weissmann, C. (2007). Prion strain discrimination in cell culture: the cell panel assay. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(52): 20908–20913. doi: 10.1073/pnas.0710054104.

683. Maheshwari, A., Fischer, M., Gambetti, P., Parker, A., Ram, A., Soto, ... Hussein, H.M. (2015). Recent US Case of Variant Creutzfeldt-Jakob Disease-Global Implications. *Emerging infectious diseases*, 21(5): 750–759. doi: 10.3201/eid2105.142017.

684. Ma, J., Lindquist, S. (1999). De novo generation of a PrPSc-like conformation in living cells. *Nature cell biology*, 1(6): 358–361. doi: 10.1038/14053.

685. Ma, J., Wang, F. (2014) Prion disease and the protein-only hypothesis. *Essays Biochem*, 56: 181–191. doi: 10.1042/bse0560181.



686. Makarava, N., Kovacs, G.G., Savtchenko, R., Alexeeva, I., Ostapchenko, V.G., Budka, H., Rohwer, R.G., Baskakov, I.V. (2012). A new mechanism for transmissible prion diseases. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 32(21): 7345–7355. doi: 10.1523/JNEUROSCI.6351-11.2012.
687. Makarava, N., Savtchenko, R., Baskakov, I.V. (2013). Selective amplification of classical and atypical prions using modified protein misfolding cyclic amplification. *The Journal of biological chemistry*, 288(1): 33–41. doi: 10.1074/jbc.M112.419531.
688. Makarava, N., Savtchenko, R., Alexeeva, I., Rohwer, R.G., Baskakov, I.V. (2016). New Molecular Insight into Mechanism of Evolution of Mammalian Synthetic Prions. *The American journal of pathology*, 186(4): 1006–1014. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.11.013.
689. Mallucci, G., Dickinson, A., Linehan, J., Klöhn, P.C., Brandner, S., Collinge, J. (2003). Depleting neuronal PrP in prion infection prevents disease and reverses spongiosis. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5646): 871–874. doi: 10.1126/science.1090187.
690. Mallucci, G.R., Ratté, S., Asante, E.A., Linehan, J., Gowland, I., Jefferys, J.G., Collinge, J. (2002). Post-natal knockout of prion protein alters hippocampal CA1 properties, but does not result in neurodegeneration. *The EMBO journal*, 21(3): 202–210. doi: 10.1093/emboj/21.3.202.
691. Mange, A., Beranger, F., Peoc'h, K., Onodera, T., Frobert, Y., Lehmann, S. (2004) Alpha- and beta-cleavages of the amino-terminus of the cellular prion protein. *Biol Cell*, 96:125–132. doi: 10.1016/j.biolcel.2003.11.007.
692. Mangieri, M., Miccolo, C., Limido, L., Catania, M., Rossi, G., Di Fede, G., ... Tagliavini, F. (2007). Conversion of the BASE prion strain into the BSE strain: the origin of BSE?. *PLoS pathogens*, 3(3): e31. doi: 10.1371/journal.ppat.0030031.
693. Manix, M., Kalakoti, P., Henry, M., Thakur, J., Menger, R., Guthikonda, B, Nanda, A. (2015) Creutzfeldt-Jakob disease: updated diagnostic criteria, treatment algorithm, and the utility of brain biopsy. *Neurosurg. Focus*, 39(5): 1–11. doi: 10.3171/2015.8.FOCUS15328.
694. Manjerovic, M.B., Green, M.L., Mateus-Pinilla, N., Novakofski, J. (2014). The importance of localized culling in stabilizing chronic wasting disease prevalence in white-tailed deer populations. *Preventive veterinary medicine*, 113(1): 139–145. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.09.011.
695. Marambio, L., Catania, M., Park, K. W., Maderna, E., Suardi, S., Haïk, S., ... Soto, C. (2014). Prions in the urine of patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease. *The New England journal of medicine*, 371(6): 530–539. doi: 10.1056/NEJMoa1404401.
696. Marques, I.B., Teotónio, R., Cunha, C., Bento, C., & Sales, F. (2014). Anti-NMDA receptor encephalitis presenting with total insomnia – a case report.

*Journal of the neurological sciences*, 336(1–2): 276–280. doi: 10.1016/j.jns.2013.10.034.

697. Marsh R.F. (1972) Animal model of human disease: Kuru, Creutzfeldt-Jakob disease (slow virus infections). Animal model: transmissible mink encephalopathy, scrapie-like disease of mink. *Am J Pathol.*, 69: 209–212.

698. Marsh, R.F., Bessen, R.A., Lehmann, S., Hartsough, G.R. (1991). Epidemiological and experimental studies on a new incident of transmissible mink encephalopathy. *The Journal of general virology*, 72 (3): 589–594. doi: 10.1099/0022-1317-72-3-589.

699. Marsh, R.F., Hadlow, W.J. (1992). Transmissible mink encephalopathy. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 11(2): 539–550. doi: 10.20506/rst.11.2.606.

700. Marsh, R.F., Kincaid, A.E., Bessen, R.A., Bartz, J.C. (2005). Interspecies transmission of chronic wasting disease prions to squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Journal of virology*, 79(21): 13794–13796. doi: 10.1128/JVI.79.21.13794-13796.2005.

701. Martin, S., Jeffrey, M., González, L., Sisó, S., Reid, H. W., Steele, P., ... Balachandran, A. (2009). Immunohistochemical and biochemical characteristics of BSE and CWD in experimentally infected European red deer (*Cervus elaphus elaphus*). *BMC veterinary research*, 5: 26. doi: 10.1186/1746-6148-5-26.

702. Martinou, J., Green, D. (2001) Breaking the mitochondrial barrier. *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 2(1): 63–67. doi: 10.1038/35048069.

703. Masel, J., Jansen, V.A.A., Nowak, M.A. (1999) Quantifying the kinetic parameters of prion replication. *Biophys Chem*, 77(2–3): 139–152. doi: 10.1016/s0301-4622(99)00016-2.

704. Masters, C.L., Gajdusek, D.C., & Gibbs, C.J., Jr (1981). Creutzfeldt-Jakob disease virus isolations from the Gerstmann-Sträussler syndrome with an analysis of the various forms of amyloid plaque deposition in the virus-induced spongiform encephalopathies. *Brain : a journal of neurology*, 104(3): 559–588. doi: 10.1093/brain/104.3.559.

705. Mastrianni, J.A., Nixon, R., Layzer, R., Telling, G.C., Han, D., DeArmond, S. J., & Prusiner, S.B. (1999). Prion protein conformation in a patient with sporadic fatal insomnia. *The New England journal of medicine*, 340(21): 1630–1638. doi: 10.1056/NEJM199905273402104.

706. Masujin, K., Shu, Y., Yamakawa, Y., Hagiwara, K., Sata, T., Matsuura, Y., ... Yokoyama, T. (2008). Biological and biochemical characterization of L-type-like bovine spongiform encephalopathy (BSE) detected in Japanese black beef cattle. *Prion*, 2(3): 123–128. doi: 10.4161/pri.2.3.7437.

707. Masujin, K., Orrú, C.D., Miyazawa, K., Groveman, B.R., Raymond, L.D., Hughson, A.G., Caughey, B. (2016). Detection of Atypical H-Type Bovine

Spongiform Encephalopathy and Discrimination of Bovine Prion Strains by Real-Time Quaking-Induced Conversion. *Journal of clinical microbiology*, 54(3): 676–686. doi: 10.1128/JCM.02731-15.

708. Mathiason, C.K., Hays, S.A., Powers, J., Hayes-Klug, J., Langenberg, J., Dahmes, S.J., ... Hoover, E. A. (2009). Infectious prions in pre-clinical deer and transmission of chronic wasting disease solely by environmental exposure. *PloS one*, 4(6): e5916. doi: 10.1371/journal.pone.0005916.

709. Mathiason, C.K., Powers, J.G., Dahmes, S.J., Osborn, D.A., Miller, K.V., Warren, R.J., ... Hoover, E.A. (2006). Infectious prions in the saliva and blood of deer with chronic wasting disease. *Science (New York, N.Y.)*, 314(5796): 133–136. doi: 10.1126/science.1132661.

710. Mathiason C.K. (2017). Scrapie, CWD, and Transmissible Mink Encephalopathy. *Progress in molecular biology and translational science*, 150: 267–292. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.07.009.

711. Matsuura, Y., Ishikawa, Y., Bo, X., Murayama, Y., Yokoyama, T., Somerville, R. A., Kitamoto, T., Mohri, S. (2013). Quantitative analysis of wet-heat inactivation in bovine spongiform encephalopathy. *Biochemical and biophysical research communications*, 432(1): 86–91. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.01.081.

712. Matsuura, Y., Iwamaru, Y., Masujin, K., Imamura, M., Mohri, S., Yokoyama, T., Okada, H. (2013). Distribution of abnormal prion protein in a sheep affected with L-type bovine spongiform encephalopathy. *Journal of comparative pathology*, 149(1): 113–118. doi: 10.1016/j.jcpa.2012.11.231.

713. Mattei, V., Garofalo, T., Misasi, R., Circella, A., Manganelli, V., Lucania, G., Pavan, A., Sorice, M. (2004) Prion protein is a component of the multimolecular signalling complex involved in T cell activation. *FEBS Lett.*, 560(1–3): 14–18. doi: 10.1016/S0014-5793(04)00029-8.

714. Matthews, D., Cooke, B.C. (2003). The potential for transmissible spongiform encephalopathies in non-ruminant livestock and fish. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 22(1): 283–296. doi: 10.20506/rst.22.1.1393.

715. Mawhinney, S., Pape, W.J., Forster, J.E., Anderson, C.A., Bosque, P., Miller, M.W. (2006). Human prion disease and relative risk associated with chronic wasting disease. *Emerging infectious diseases*, 12(10): 1527–1535. doi: 10.3201/eid1210.060019.

716. Mays, C.E., Kim, C., Haldiman, T., van der Merwe, J., Lau, A., Yang, J., ... Safar, J.G. (2014). Prion disease tempo determined by host-dependent substrate reduction. *The Journal of clinical investigation*, 124(2): 847–858. doi: 10.1172/JCI72241.

717. McCulloch, L., Brown, K.L., Bradford, B.M., Hopkins, J., Bailey, M., Rajewsky, K., Manson, J.C., Mabbott, N.A. (2011). Follicular dendritic cell-specific prion protein (PrP) expression alone is sufficient to sustain prion

infection in the spleen. *PLoS pathogens*, 7(12): e1002402. doi: 10.1371/journal.ppat.1002402.

718. McDonnell, G., Dehen, C., Perrin, A., Thomas, V., Igel-Egalon, A., Burke, P. A., Deslys, J.P., Comoy, E. (2013). Cleaning, disinfection and sterilization of surface prion contamination. *The Journal of hospital infection*, 85(4): 268–273. doi: 10.1016/j.jhin.2013.08.003.

719. McIntyre, K.M., Trewby, H., Gubbins, S., Baylis, M. (2010). The impact of sheep breed on the risk of classical scrapie. *Epidemiology and infection*, 138(3): 384–392. doi: 10.1017/S0950268809990537.

720. McGovern, G., Martin, S., Jeffrey, M., Bellworthy, S. J., Spiropoulos, J., Green, R., ... González, L. (2015). Influence of breed and genotype on the onset and distribution of infectivity and disease-associated prion protein in sheep following oral infection with the bovine spongiform encephalopathy agent. *Journal of comparative pathology*, 152(1): 28–40. doi: 10.1016/j.jcpa.2014.09.004.

721. McGovern, G., Martin, S., Jeffrey, M., Dexter, G., Hawkins, S.A., Bellworthy, S.J., ... González, L. (2016). Minimum Effective Dose of Cattle and Sheep BSE for Oral Sheep Infection. *PLoS one*, 11(3): e0151440. doi: 10.1371/journal.pone.0151440.

722. McKinley, M.P., Bolton, D.C., Prusiner S.B. (1983) A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell*, 35(1): 57–62. doi: 10.1016/0092-8674(83)90207-6.

723. McKinley, M.P., Taraboulos, A., Kenaga, L., Serban, D., Stieber, A., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B., Gonas, N. (1991). Ultrastructural localization of scrapie prion proteins in cytoplasmic vesicles of infected cultured cells. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 65(6): 622–630.

724. McLean, C.A., Storey, E., Gardner, R.J., Tannenberg, A.E., Cervenáková, L., & Brown, P. (1997). The D178N (cis-129M) "fatal familial insomnia" mutation associated with diverse clinicopathologic phenotypes in an Australian kindred. *Neurology*, 49(2): 552–558. doi: 10.1212/wnl.49.2.552.

725. McNiven, K., Nihat, A., Mok, T.H., Tesfamichael, S., O'Donnell, V., Rudge, P., Collinge, J., & Mead, S. (2019). Enteral feeding is associated with longer survival in the advanced stages of prion disease. *Brain communications*, 1(1): fcz012. doi: 10.1093/braincomms/fcz012.

726. Mead, S., Gandhi, S., Collinge, J., Caine, D., Gallujipali, D., Carswell, Ch., ... Collinge J. (2013) A novel prion disease associated with diarrhea and autonomic neuropathy. *N Engl J Med.*, 369(20): 1904–1914. doi: 10.1056/NEJMoa1214747.

727. Mead, S. (2006). Prion disease genetics. *European journal of human genetics : EJHG*, 14(3): 273–281. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201544.

728. Mead, S., & Rudge, P. (2017). CJD mimics and chameleons. *Practical neurology*, 17(2): 113–121. doi: 10.1136/practneurol-2016-001571.
729. Mead, S., Whitfield, J., Poulter, M., Shah, P., Uphill, J., Campbell, T., ... Collinge, J. (2009). A novel protective prion protein variant that colocalizes with kuru exposure. *N. Engl. J. Med.* 361(21): 2056–2065. doi: 10.1056/NEJMoa0809716.
730. Medori, R., Tritschler, H.J., LeBlanc, A., Villare, F., Manetto, V., Chen, H.Y., ... Cortelli, P. (1992). Fatal familial insomnia, a prion disease with a mutation at codon 178 of the prion protein gene. *The New England journal of medicine*, 326(7): 444–449. doi: 10.1056/NEJM199202133260704.
731. Mehrpour, M., Codogno, P. (2010) From physiology to cancer biology. *Cancer Lett.*, 290(1): 23. doi: 10.1016/j.canlet.2009.07.009.
732. Mehta, L.R., Huddleston, B.J., Skalabrin, E.J., Burns, J.B., Zou, W.Q., Gambetti, P., & Chin, S.S. (2008). Sporadic fatal insomnia masquerading as a paraneoplastic cerebellar syndrome. *Archives of neurology*, 65(7): 971–973. doi: 10.1001/archneur.65.7.971.
733. Meloni, D., Davidse, A., Langeveld, J.P., Varello, K., Casalone, C., Corona, C., ... Bozzetta, E. (2012). EU-approved rapid tests for bovine spongiform encephalopathy detect atypical forms: a study for their sensitivities. *PLoS one*, 7(9): e43133. doi: 10.1371/journal.pone.0043133.
734. Merkulov, G.A. (1969) Kurs patologo-gistologicheskoi tekhniki. L.: Meditsina, pp. 376.
735. Merz, P.A., Somerville, R.A., Wisniewski, H.M., Iqbal, K. (1981). Abnormal fibrils from scrapie-infected brain. *Acta neuropathologica*, 54(1): 63–74. doi: 10.1007/BF00691333.
736. Merz, P.A., Rohwer, R.G., Kascsak, R., Wisniewski, H.M., Somerville, R.A., Gibbs, C.J., Jr, Gajdusek, D.C. (1984). Infection-specific particle from the unconventional slow virus diseases. *Science (New York, N.Y.)*, 225(4660): 437–440. doi: 10.1126/science.6377496.
737. Mestre-Francés, N., Nicot, S., Rouland, S., Biacabe, A. G., Quadrio, I., Perret-Liaudet, A., Baron, T., Verdier, J.M. (2012). Oral transmission of L-type bovine spongiform encephalopathy in primate model. *Emerging infectious diseases*, 18(1): 142–145. doi: 10.3201/eid1801.111092.
738. Meyer, R.K., McKinley, M.P., Bowman, K.A., Braunfeld, M.B., Barry, R.A., Prusiner, S.B. (1986). Separation and properties of cellular and scrapie prion proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(8): 2310–2314. doi: 10.1073/pnas.83.8.2310.
739. Michelitsch, M.D., Weissman J.S. (2000). A census of glutamine/asparagine-rich regions: implications for their conserved function and the prediction of novel prions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(22): 11910–11915. doi: 10.1073/pnas.97.22.11910.

740. Miller, M.W., Wild, M.A. (2004). Epidemiology of chronic wasting disease in captive white-tailed and mule deer. *Journal of wildlife diseases*, 40(2): 320–327. doi: 10.7589/0090-3558-40.2.320.
741. Miller, M.W., Williams, E.S., Hobbs, N.T., & Wolfe, L.L. (2004). Environmental sources of prion transmission in mule deer. *Emerging infectious diseases*, 10(6), 1003–1006. doi: 10.3201/eid1006.040010.
742. Minikel, E.V., Vallabh, S.M., Lek, M., Estrada, K., Samocha, K.E., Sathirapongsasuti, J.F., ... van Duijn, C.M. (2016) Quantifying prion disease penetrance using large population control cohorts. *Exome Aggregation Consortium (ExAC), Daly MJ, MacArthur DG. Sci Transl Med.*, 8(322): 322ra9. doi: 10.1126/scitranslmed.aad5169.
743. Ministry of Agriculture and Forestry (MAF) and New Zealand Food Safety Authority (2009) Atypical/Nor98 scrapie in New Zealand. <http://www.biosecurity.govt.nz/media/28-10-09/atypical-scrapie-detection>.
744. Mitchell, G.B., O'Rourke, K.I., Harrington, N.P., Soutyrine, A., Simmons, M.M., Dudas, S., ... Balachandran, A. (2010). Identification of atypical scrapie in Canadian sheep. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 22(3): 408–411. doi: 10.1177/104063871002200310.
745. Mitchell, G.B., Sigurdson, C.J., O'Rourke, K.I., Algire, J., Harrington, N.P., Walther, I., Spraker, T.R., & Balachandran, A. (2012). Experimental oral transmission of chronic wasting disease to reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *PLoS one*, 7(6): e39055. doi: 10.1371/journal.pone.0039055.
746. Miyazono, M., Kitamoto, T., Doh-ura, K., Iwaki, T., Tateishi, J. (1992). Creutzfeldt-Jakob disease with codon 129 polymorphism (valine): a comparative study of patients with codon 102 point mutation or without mutations. *Acta neuropathologica*, 84(4): 349–354. doi: 10.1007/BF00227660.
747. Moda, F., Gambetti, P., Notari, S., Concha-Marambio, L., Catania, M., Park, K.W., ... Soto, C. (2014). Prions in the urine of patients with variant Creutzfeldt-Jakob disease. *The New England journal of medicine*, 371(6): 530–539. doi: 10.1056/NEJMoa1404401.
748. Moda, F., Suardi, S., Di Fede, G., Indaco, A., Limido, L., Vimercati, C., ... Tagliavini, F. (2012). MM2-thalamic Creutzfeldt-Jakob disease: neuropathological, biochemical and transmission studies identify a distinctive prion strain. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 22(5): 662–669. doi: 10.1111/j.1750-3639.2012.00572.x.
749. Mohan, J., Brown, K.L., Farquhar, C.F., Bruce, M.E., & Mabbott, N.A. (2004). Scrapie transmission following exposure through the skin is dependent on follicular dendritic cells in lymphoid tissues. *Journal of dermatological science*, 35(2): 101–111. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.05.005.

750. Monleón, E., Garza, M.C., Sarasa, R., Alvarez-Rodriguez, J., Bolea, R., Monzón, M., ... Acín, C. (2011). An assessment of the efficiency of PrPsc detection in rectal mucosa and third-eyelid biopsies from animals infected with scrapie. *Veterinary microbiology*, 147(3–4): 237–243. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.06.028.
751. Montagna, P., Cortelli, P., Avoni, P., Tinuper, P., Plazzi, G., Gallassi, R., ... Lugaresi, E. (1998). Clinical features of fatal familial insomnia: phenotypic variability in relation to a polymorphism at codon 129 of the prion protein gene. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(3): 515–520. doi: 10.1111/j.1750-3639.1998.tb00172.x.
752. Montagna, P., Gambetti, P., Cortelli, P., & Lugaresi, E. (2003). Familial and sporadic fatal insomnia. *The Lancet. Neurology*, 2(3): 167–176. doi: 10.1016/s1474-4422(03)00323-5.
753. Montagna P. (2011). Fatal familial insomnia and the role of the thalamus in sleep regulation. *Handbook of clinical neurology*, 99: 981–996. doi: 10.1016/B978-0-444-52007-4.00018-7.
754. Montrasio, F., Cozzio, A., Flechsig, E., Rossi, D., Klein, M.A., Rüllicke, T. ... Weissmann, C. (2001) “B lymphocyte-restricted expression of prion protein does not enable prion replication in prion protein knockout mice.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* vol. 98,7: 4034–4037. doi:10.1073/pnas.051609398.
755. Moore, S.J., Simmons, M., Chaplin, M., Spiropoulos, J. (2008). Neuroanatomical distribution of abnormal prion protein in naturally occurring atypical scrapie cases in Great Britain. *Acta neuropathologica*, 116(5): 547–559. doi: 10.1007/s00401-008-0433-8.
756. Moore, S.J., Smith, J.D., Greenlee, M.H., Nicholson, E.M., Richt, J.A., & Greenlee, J.J. (2016). Comparison of Two US Sheep Scrapie Isolates Supports Identification as Separate Strains. *Veterinary pathology*, 53(6): 1187–1196. doi: 10.1177/0300985816629712.
757. Morales, R., Abid, K., Soto, C. (2007). The prion strain phenomenon: molecular basis and unprecedented features. *Biochimica et biophysica acta*, 1772(6): 681–691. doi: 10.1016/j.bbadis.2006.12.006.
758. Morawski, A.R., Carlson, C.M., Chang, H., Johnson, C.J. (2013). In vitro prion protein conversion suggests risk of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) to transmissible spongiform encephalopathies. *BMC*
759. *veterinary research*, 9: 157. doi: 10.1186/1746-6148-9-157.
760. Moreno, J.A., Halliday, M., Molloy, C., Radford, H., Verity, N., Axten, J.M., ... Mallucci, G. R. (2013). Oral treatment targeting the unfolded protein response prevents neurodegeneration and clinical disease in prion-infected mice. *Science translational medicine*, 5(206): 206ra138. doi: 10.1126/scitranslmed.3006767.

761. Moriyama, H., Edskes, H.K., Wickner, R.B. (2000). [URE3] prion propagation in *Saccharomyces cerevisiae*: requirement for chaperone Hsp104 and curing by overexpressed chaperone Ydj1p. *Molecular and cellular biology*, 20(23): 8916–8922. doi: 10.1128.
762. Moudjou, M., Chapuis, J., Mekrouti, M., Reine, F., Herzog, L., Sibille, P., ... Béringue, V. (2016). Glycoform-independent prion conversion by highly efficient, cell-based, protein misfolding cyclic amplification. *Scientific reports*, 6: 29116. doi: 10.1038/srep29116.
763. Moudjou, M., Sibille, P., Fichet, G., Reine, F., Chapuis, J., Herzog, L., ... Béringue, V. (2013). Highly infectious prions generated by a single round of microplate-based protein misfolding cyclic amplification. *mBio*, 5(1): e00829-13. doi: 10.1128/mBio.00829-13.
764. Mould, D.L., Dawson, A.M., Rennie, J.C. (1970). Very early replication of scrapie in lymphocytic tissue. *Nature*, 228(5273): 779–780. doi: 10.1038/228779a0.
765. Moum, T., Olsaker, I., Hopp, P., Moldal, T., Valheim, M., Moum, T., Benestad, S.L. (2005). Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *The Journal of general virology*, 86(1): 231–235. doi: 10.1099/vir.0.80437-0.
766. Muayqil, T., Gronseth, G., & Camicioli, R. (2012). Evidence-based guideline: diagnostic accuracy of CSF 14-3-3 protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 79(14): 1499–1506. doi: 10.1212/WNL.0b013e31826d5fc3.
767. Munoz-Montesino, C., Sizun, C., Moudjou, M., Herzog, L., Reine, F., Chapuis, J., Ciric, ... Dron, M. (2016). Generating Bona Fide Mammalian Prions with Internal Deletions. *Journal of virology*, 90(15): 6963–6975. doi: 10.1128/JVI.00555-16.
768. Munoz-Montesino, C., Sizun, C., Moudjou, M., Herzog, L., Reine, F., Igel-Egalon, A., ... Dron, M. (2017). A stretch of residues within the protease-resistant core is not necessary for prion structure and infectivity. *Prion*, 11(1): 25–30. doi: 10.1080/19336896.2016.1274851.
769. Murayama, Y., Yoshioka, M., Yokoyama, T., Iwamaru, Y., Imamura, M., Masujin, K., Yoshiba, S., Mohri, S. (2007). Efficient in vitro amplification of a mouse-adapted scrapie prion protein. *Neuroscience letters*, 413(3): 270–273. doi: 10.1016/j.neulet.2006.11.056.
770. Murakami, T., Ishiguro, N., Higuchi, K. (2014) Transmission of systemic AA amyloidosis in animals. *Vet Pathol.*, 51(2): 363–371. doi: 10.1177/0300985813511128.
771. Nalls, A.V., McNulty, E.E., Mayfield, A., Crum, J.M., Keel, M.K., Hoover, E. A., Ruder, M.G., & Mathiason, C.K. (2021). Detection of Chronic



Wasting Disease Prions in Fetal Tissues of Free-Ranging White-Tailed Deer. *Viruses*, 13(12): 2430. doi: 10.3390/v13122430.

772. Nalls, A.V., McNulty, E., Powers, J., Seelig, D.M., Hoover, C., Haley, N.J., ... Mathiason, C. K. (2013). Mother to offspring transmission of chronic wasting disease in reeves' muntjac deer. *PLoS one*, 8(8): e71844. doi: 10.1371/journal.pone.0071844.

773. Nathanson, N., Wilesmith, J., Griot, C. (1997). Bovine spongiform encephalopathy (BSE): causes and consequences of a common source epidemic. *American journal of epidemiology*, 145(11): 959–969. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009064.

774. National CJD Research & Surveillance Unit. *Diagnostic criteria for Creutzfeldt-Jakob disease* <https://www.cjd.ed.ac.uk/sites/default/files/criteria.pdf> (2017).

775. National CJD Research & Surveillance Unit. *Protocol. Surveillance of CJD in the UK* <https://www.cjd.ed.ac.uk/sites/default/files/NCJDRSU%20surveillance%20protocol-april%202017%20rev2.pdf> (2017).

776. Nemani, S.K., Myskiw, J.L., Lamoureux, L., Booth, S.A., Sim, V.L. (2020). Exposure Risk of Chronic Wasting Disease in Humans. *Viruses*, 12(12): 1454. doi: 10.3390/v12121454.

777. Nemani, S.K., Xiao, X., Cali, I., Cracco, L., Puoti, G., Nigro, ... Gambetti P. (2020) A novel mechanism of phenotypic heterogeneity in Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol Commun*, 8(1): 85. doi: 10.1186/s40478-020-00966-x.

778. Ness, F., Ferreira, P., Cox, B. S., Tuite, M. F. (2002). Guanidine hydrochloride inhibits the generation of prion “seeds” but not prion protein aggregation in yeast. *Molecular and cellular biology*, 22(15): 5593–5605. doi: 10.1128/MCB.22.15.5593-5605.2002.

779. Neuendorf, E., Weber, A., Saalmueller, A., Schatzl, H., Reifenberg, K., Pfaff, E., Groschup, M.H. (2004). Glycosylation deficiency at either one of the two glycan attachment sites of cellular prion protein preserves susceptibility to bovine spongiform encephalopathy and scrapie infections. *The Journal of biological chemistry*, 279(51): 53306–53316. doi: 10.1074/jbc.M410796200.

780. Neumann, M.A., Gajdusek, D.C., & Zigas, V. (1964). Neuropathologic findings in exotic neurologic disorders among natives of the highlands of new Guinea. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 23: 486–507. doi: 10.1097/00005072-196407000-00007.

781. Neurodegeneration and prion disease / edited by David R. Brown. Springer Science & Business Media, 2005, 456.

782. Newnam, G.P., Wegrzyn, R.D., Lindquist, S.L., Chernoff, Y.O. (1999). Antagonistic interactions between yeast chaperones Hsp104 and Hsp70 in prion curing. *Molecular and cellular biology*, 19(2): 1325–1333. doi: 10.1128/MCB.19.2.1325.

783. Nichols, T.A., Pulford, B., Wyckoff, A.C., Meyerett, C., Michel, B., Gertig, K., ... Zabel, M. D. (2009). Detection of protease-resistant cervid prion protein in water from a CWD-endemic area. *Prion*, 3(3): 171–183. doi: 10.4161/pri.3.3.9819.

784. Nichols, T.A., Spraker, T.R., Gidlewski, T., Powers, J.G., Telling, G.C., VerCauteren, K.C., Zabel, M.D. (2012). Detection of prion protein in the cerebrospinal fluid of elk (*Cervus canadensis nelsoni*) with chronic wasting disease using protein misfolding cyclic amplification. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(4): 746–749. doi: 10.1177/1040638712448060.

785. Nichols, T.A., Spraker, T.R., Rigg, T.D., Meyerett-Reid, C., Hoover, C., Michel, B., ... VerCauteren, K.C. (2013). Intranasal inoculation of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) with lyophilized chronic wasting disease prion particulate complexed to montmorillonite clay. *PLoS one*, 8(5): e62455. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062455>.

786. Nichols, T.A., Fischer, J.W., Spraker, T.R., Kong, Q., VerCauteren, K.C. (2015). CWD prions remain infectious after passage through the digestive system of coyotes (*Canis latrans*). *Prion*, 9(5): 367–375. doi: 10.1080/19336896.2015.1086061.

787. Nieznanski, K., Nieznanska, H., Skowronek, K., Osiecka, K., Stepkowski, D. (2005) Direct interaction between prion protein and tubulin. *Biochem Biophys Res Commun.*, 334: 403–411. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.06.092.

788. Nishida, N., Katamine, S., Shigematsu, K., Nakatani, A., Sakamoto, N., Hasegawa, S., ... Miyamoto, T. (1997). Prion protein is necessary for latent learning and long-term memory retention. *Cellular and molecular neurobiology*, 17(5): 537–545. doi: 10.1023/a:1026315006619.

789. Nonno, R., Di Bari, M.A., Cardone, F., Vaccari, G., Fazzi, P., Dell'Omo, G., ... Agrimi, U. (2006). Efficient transmission and characterization of Creutzfeldt-Jakob disease strains in bank voles. *PLoS pathogens*, 2(2): e12. doi: 10.1371/journal.ppat.0020012.

790. Nonno, R., Notari, S., Di Bari, M.A., Cali, I., Pirisinu, L., d'Agostino, C., ... Gambetti, P. (2019). Variable Protease-Sensitive Prionopathy Transmission to Bank Voles. *Emerging infectious diseases*, 25(1): 73–81. doi: 10.3201/eid2501.180807.

791. Northern Territory Government. *Environment: animals. Feral camel* <https://nt.gov.au/environment/animals/feral-animals/feral-camel> (2015).

792. Norwegian Food Safety Authority. Chronic wasting disease in Norway. 2016. Available at: [http://www.mattilsynet.no/language/english/animals/chronic\\_wasting\\_disease\\_in\\_norway.23274](http://www.mattilsynet.no/language/english/animals/chronic_wasting_disease_in_norway.23274). Accessed 28 Jul 2016.

793. Notari, S., Appleby, B.S., Gambetti, P. (2018) Variably protease-sensitive prionopathy. *Handb Clin Neurol.*, 153: 175–190. doi: 10.1016/B978-0-444-63945-5.00010-6.

794. Notari, S., Xiao, X., Espinosa, J.C., Cohen, Y., Qing, L., Aguilar-Calvo, P., ... Gambetti, P. (2014). Transmission characteristics of variably protease-sensitive prionopathy. *Emerging infectious diseases*, 20(12): 2006–2014. doi: 10.3201/eid2012.140548.

795. Novakofski, J., Brewer, M.S., Mateus-Pinilla, N., Killefer, J., McCusker, R.H. (2005). Prion biology relevant to bovine spongiform encephalopathy. *Journal of animal science*, 83(6): 1455–1476. doi: 10.2527/2005.8361455x.

796. Novikov, D.K., Generalov, I.I., Danyuschenkova, N.M. (2010) *Meditsinskaya mikrobiologiya*. Vitebsk: VGU, 597 s.

797. Novitskaya, V., Bocharova, O.V., Bronstein, I., Baskakov, I.V. (2006). Amyloid fibrils of mammalian prion protein are highly toxic to cultured cells and primary neurons. *The Journal of biological chemistry*, 281(19): 13828–13836. doi: 10.1074/jbc.M511174200.

798. Nudelman, R. (2004) “Beshenyiy” prion – osnova nashey pamyati? *Znanie-sila*, 8: 10–12.

799. Oelschlegel, A.M., Weissmann, C. (2013). Acquisition of drug resistance and dependence by prions. *PLoS pathogens*, 9(2): e1003158. doi: 10.1371/journal.ppat.1003158.

800. Oesch, B., Westaway, D., Wälchli, M., McKinley, M.P., Kent, S.B., Aebersold, R., ... Weissmann, C. (1985) A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell*, 40(4): 735–746. doi: 10.1016/0092-8674(85)90333-2.

801. Ohba, M. (1997). Modulation of intracellular protein degradation by SSB1-SIS1 chaperon system in yeast *S. cerevisiae*. *FEBS letters*, 409(2): 307–311. doi: 10.1016/s0014-5793(97)00535-8.

802. Oidtmann, B., Simon, D., Holtkamp, N., Hoffmann, R., Baier, M. (2003). Identification of cDNAs from Japanese pufferfish (*Fugu rubripes*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) coding for homologues to tetrapod prion proteins. *FEBS letters*, 538(1–3): 96–100. doi: 10.1016/s0014-5793(03)00149-2.

803. OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-code/access-online/>

804. OIE: Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide. [http://www.oie.int/eng/info/en\\_esbmonde.htm](http://www.oie.int/eng/info/en_esbmonde.htm) (accessed September 6, 2010).

805. OIE Terrestrial Animal Health Code <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>

806. Oka, M., Nakai, M., Endo, T., Lim, C. R., Kimata, Y., & Kohno, K. (1998). Loss of Hsp70-Hsp40 chaperone activity causes abnormal nuclear distribution and aberrant microtubule formation in M-phase of *Saccharomyces*

cerevisiae. *The Journal of biological chemistry*, 273(45): 29727–29737. doi: 10.1074/jbc.273.45.29727.

807. Okada, H., Iwamaru, Y., Imamura, M., Masujin, K., Matsuura, Y., Shimizu, Y., ... Czub, S. (2011). Experimental H-type bovine spongiform encephalopathy characterized by plaques and glial- and stellate-type prion protein deposits. *Veterinary research*, 42(1): 79. doi: 10.1186/1297-9716-42-79.

808. Okada, H., Iwamaru, Y., Fukuda, S., Yokoyama, T., Mohri, S. (2012). Detection of disease-associated prion protein in the optic nerve and the adrenal gland of cattle with bovine spongiform encephalopathy by using highly sensitive immunolabeling procedures. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 60(4): 290–300. doi: 10.1369/0022155412437218.

809. Okada, H., Murayama, Y., Shimozaki, N., Yoshioka, M., Masujin, K., Imamura, M., ... Mohri, S. (2012). Prion in saliva of bovine spongiform encephalopathy-infected cattle. *Emerging infectious diseases*, 18(12): 2091–2092. doi: 10.3201/1812.120528.

810. Okada, H., Miyazawa, K., Fukuda, S., Iwamaru, Y., Imamura, M., Masujin, K., ... Yokoyama, T. (2014). The presence of disease-associated prion protein in skeletal muscle of cattle infected with classical bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of veterinary medical science*, 76(1): 103–107. doi: 10.1292/jvms.13-0363.

811. Okada, H., Miyazawa, K., Imamura, M., Iwamaru, Y., Masujin, K., Matsuura, Y., Yokoyama, T. (2016). Transmission of atypical scrapie to homozygous ARQ sheep. *The Journal of veterinary medical science*, 78(10): 1619–1624. doi: 10.1292/jvms.16-0259.

812. Okulova, I.I., Zhdanova, O.B. (2016) Prionnyye infektsii, nekotoryye aspekty ikh diagnostiki i profilaktiki. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*, 1(49): 21–24.

813. Olanow, C.W., Brundin, P. (2013) Parkinson's disease and alpha synuclein: is Parkinson's disease a prion-like disorder? *Mov Disord*, 28(1): 31–40. doi: 10.1002/mds.25373.

814. Oleksiuk-Nekhames, A.H. (2015) Prionovi zakhvoriuvannia. Khvoroba Kreittsfelda-Yakoba. Elektroneiromiografii-neirofizioloiiia. Elektronnyi resurs: <http://www.miograf.lviv.ua/?p=1315>.

815. Olszowy, K.M., Lavelle, J., Rachfal, K., Hempstead, S., Drouin, K., Darcy, J. M., 2nd, Reiber, C., Garruto, R.M. (2014). Six-year follow-up of a point-source exposure to CWD contaminated venison in an Upstate New York community: risk behaviours and health outcomes 2005-2011. *Public health*, 128(9): 860–868. doi: 10.1016/j.puhe.2014.06.012.

816. Onnasch, H., Gunn, H.M., Bradshaw, B.J., Benestad, S.L., Bassett, H.F. (2004). Two Irish cases of scrapie resembling Nor98. *The Veterinary record*, 155(20): 636–637. doi: 10.1136/vr.155.20.636.

817. Onodera, T., Sakudo, A. (2020). Introduction to Current Progress in Advanced Research on Prions. *Current issues in molecular biology*, 36: 63–66. doi: 10.21775/cimb.036.063.
818. Ono, F., Tase, N., Kurosawa, A., Hiyaoka, A., Ohyama, A., Tezuka, Y., ... Sata, T. (2011). Atypical L-type bovine spongiform encephalopathy (L-BSE) transmission to cynomolgus macaques, a non-human primate. *Japanese journal of infectious diseases*, 64(1): 81–84.
819. Orge, L., Galo, A., Machado, C., Lima, C., Ochoa, C., Silva, J., Ramos, M., Simas, J. P. (2004). Identification of putative atypical scrapie in sheep in Portugal. *The Journal of general virology*, 85(11): 3487–3491. doi: 10.1099/vir.0.80246-0.
820. Orge, L., Lima, C., Machado, C., Tavares, P., Mendonça, P., Carvalho, P., ... Pires, M. (2021). Neuropathology of Animal Prion Diseases. *Biomolecules*, 11(3): 466. doi: 10.3390/biom11030466.
821. Orge, L., Machado, C.G., Ramalho, L., Carvalho, R., Silva, J., Almeida, P., ... Simas, J.P. (2015). Identification of H-type BSE in Portugal. *Prion*, 9(1), 22–28. doi: 10.1080/19336896.2014.997615.
822. Orge, L., Oliveira, A., Machado, C., Lima, C., Ochoa, C., Silva, J., ... Simas, J.P. (2010). Putative emergence of classical scrapie in a background of enzootic atypical scrapie. *The Journal of general virology*, 91(6): 1646–1650. doi: 10.1099/vir.0.018879-0.
823. Orrú, C.D., & Caughey, B. (2011). Prion seeded conversion and amplification assays. *Topics in current chemistry*, 305, 121–133. [https://doi.org/10.1007/128\\_2011\\_184](https://doi.org/10.1007/128_2011_184).
824. Orrú, C.D., Favole, A., Corona, C., Mazza, M., Manca, M., Groveman, B. R., ... Caughey, B. (2015). Detection and discrimination of classical and atypical L-type bovine spongiform encephalopathy by real-time quaking-induced conversion. *Journal of clinical microbiology*, 53(4): 1115–1120. doi: 10.1128/JCM.02906-14.
825. Orrú, C.D., Groveman, B.R., Raymond, L.D., Hughson, A.G., Nonno, R., Zou, W., ... Caughey, B. (2015). Bank Vole Prion Protein As an Apparently Universal Substrate for RT-QuIC-Based Detection and Discrimination of Prion Strains. *PLoS pathogens*, 11(6): e1004983. doi: 10.1371/journal.ppat.1004983.
826. Orrú, C.D., Wilham, J.M., Hughson, A.G., Raymond, L.D., McNally, K.L., Bossers, A., Ligios, C., Caughey, B. (2009). Human variant Creutzfeldt-Jakob disease and sheep scrapie PrP(res) detection using seeded conversion of recombinant prion protein. *Protein engineering, design & selection : PEDS*, 22(8): 515–521. doi: 10.1093/protein/gzp031.
827. Orrú, C.D., Wilham, J.M., Raymond, L.D., Kuhn, F., Schroeder, B., Raeber, A. J., Caughey, B. (2011). Prion disease blood test using immunoprecipitation and improved quaking-induced conversion. *mBio*, 2(3): e00078–e11. doi: 10.1128/mBio.00078-11.

828. Ortiz-Pelaez, A., Stevenson, M.A., Wilesmith, J.W., Ryan, J.B., Cook, A.J. (2012). Case-control study of cases of bovine spongiform encephalopathy born after July 31, 1996 (BARB cases) in Great Britain. *The Veterinary record*, 170(15): 389. doi: 10.1136/vr.100097.
829. Osherovich, L.Z., Cox, B.S., Tuite, M.F., Weissman, J.S. (2004). Dissection and design of yeast prions. *PLoS biology*, 2(4): E86. doi: 10.1371/journal.pbio.0020086.
830. Ostapchenko, V.G., Sawaya, M.R., Makarava, N., Savtchenko, R., Nilsson, K.P., Eisenberg, D., Baskakov, I.V. (2010). Two amyloid States of the prion protein display significantly different folding patterns. *Journal of molecular biology*, 400(4): 908–921. doi: 10.1016/j.jmb.2010.05.051.
831. Osterholm, M.T., Anderson, C.J., Zabel, M.D., Scheftel, J.M., Moore, K.A., Appleby, B.S. (2019). Chronic Wasting Disease in Cervids: Implications for Prion Transmission to Humans and Other Animal Species. *mBio*, 10(4): e01091-19. doi: 10.1128/mBio.01091-19.
832. Padilla, D., Béringue, V., Espinosa, J.C., Andreoletti, O., Jaumain, E., Reine, F., ... Torres, J. M. (2011). Sheep and goat BSE propagate more efficiently than cattle BSE in human PrP transgenic mice. *PLoS pathogens*, 7(3): e1001319. doi: 10.1371/journal.ppat.1001319.
833. Palmer, M.S., Dryden, A.J., Hughes, J.T., Collinge, J. (1991). Homozygous prion protein genotype predisposes to sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Nature*, 352(6333): 340–342. doi: 10.1038/352340a0.
834. Pan, K.M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., ... Cohen, F.E. (1993). Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(23): 10962–10966. doi: 10.1073/pnas.90.23.10962.
835. Pan, K., Stahl, N., Prusiner, S. (1992) Purification and properties of the cellular prion protein from Syrian hamster brain. *Protein Sci.*, 1: 1343–1352. doi: 10.1002/pro.5560011014.
836. Pan, T., Colucci, M., Wong, B.S., Li, R., Liu, T., Petersen, R.B., ... Sy, M.S. (2001). Novel differences between two human prion strains revealed by two-dimensional gel electrophoresis. *The Journal of biological chemistry*, 276(40): 37284–37288. doi: 10.1074/jbc.M107358200.
837. Parchi, P., Castellani, R., Capellari, S., Ghetti, B., Young, K., Chen, S.G., ... Gambetti, P. (1996) Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann. Neurol.*, 39(6): 767–778. doi: 10.1002/ana.410390613.
838. Parchi, P., Castellani, R., Cortelli, P., Montagna, P., Chen, S.G., Petersen, R.B., ... Sheller, J.R. (1995). Regional distribution of protease-resistant prion protein in fatal familial insomnia. *Annals of neurology*, 38(1): 21–29. doi: 10.1002/ana.410380107.

839. Parchi, P., Giese, A., Capellari, S., Brown, P., Schulz-Schaeffer, W., Windl, O., ... Kretzschmar, H. (1999). Classification of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease based on molecular and phenotypic analysis of 300 subjects. *Annals of neurology*, 46(2): 224–233.
840. Parchi, P., Petersen, R.B., Chen, S.G., Autilio-Gambetti, L., Capellari, S., Monari, L., ... Gambetti, P. (1998). Molecular pathology of fatal familial insomnia. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(3): 539–548. doi: 10.1111/j.1750-3639.1998.tb00176.x.
841. Parchi, P., & Saverioni, D. (2012). Molecular pathology, classification, and diagnosis of sporadic human prion disease variants. *Folia neuropathologica*, 50(1): 20–45.
842. Parchi, P., Strammiello, R., Giese, A., Kretzschmar, H. (2011). Phenotypic variability of sporadic human prion disease and its molecular basis: past, present, and future. *Acta neuropathologica*, 121(1): 91–112. doi: 10.1007/s00401-010-0779-6.
843. Parchi, P., Strammiello, R., Notari, S., Giese, A., Langeveld, J. P., Ladogana, A., ... Capellari, S. (2009). Incidence and spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease variants with mixed phenotype and co-occurrence of PrPSc types: an updated classification. *Acta neuropathologica*, 118(5): 659–671. doi: 10.1007/s00401-009-0585-1.
844. Parham, S.N., Resende, C.G., Tuite, M.F. (2001). Oligopeptide repeats in the yeast protein Sup35p stabilize intermolecular prion interactions. *The EMBO journal*, 20(9): 2111–2119. doi: 10.1093/emboj/20.9.2111.
845. Parizek, P., Roeckl, C., Weber, J., Flechsig, E., Aguzzi, A., Raeber, A.J. (2001) Similar turnover and shedding of the cellular prion protein in primary lymphoid and neuronal cells. *J Biol Chem.*, 276(48): 44627–44632. doi: 10.1074/jbc.M107458200.
846. Parkin, E.T., Watt, N.T., Turner, A.J., Hooper, N.M. (2004) Dual mechanisms for shedding of the cellular prion protein. *J Biol Chem.*, 279(12): 11170–11178. doi: 10.1074/jbc.M312105200.
847. Parry H.B. (1983). Scrapie Disease in Sheep: Historical, Epidemiological, Pathological and Practical Aspects of the Natural Disease. Ed. Oppenheimer, D.R. London: *Academic Press*.
848. Parsell, D.A., Kowal, A.S., Singer, M.A., Lindquist, S. (1994). Protein disaggregation mediated by heat-shock protein Hsp104. *Nature*, 372(6505): 475–478. doi: 10.1038/372475a0.
849. Pastrana, M.A., Sajnani, G., Onisko, B., Castilla, J., Morales, R., Soto, C., Requena, J.R. (2006). Isolation and characterization of a proteinase K-sensitive PrPSc fraction. *Biochemistry*, 45(51): 15710–15717. doi: 10.1021/bi0615442.

850. Patino, M.M., Liu, J.J., Glover, J.R., Lindquist, S. (1996). Support for the prion hypothesis for inheritance of a phenotypic trait in yeast. *Science (New York, N.Y.)*, 273(5275): 622–626. doi: 10.1126/science.273.5275.622.
851. Pattison, I.H., Gordon, W.S., Millson, G.C. (1959). Experimental production of scrapie in goats. *Journal of comparative pathology*, 69, 300–312. doi: 10.1016/s0368-1742(59)80029-1.
852. Pattison, I.H., Hoare, M.N., Jebbett, J.N., & Watson, W.A. (1972). Spread of scrapie to sheep and goats by oral dosing with foetal membranes from scrapie-affected sheep. *The Veterinary record*, 90(17): 465–468. doi: 10.1136/vr.90.17.465.
853. Pattison, I.H., Millson, G.C. (1961). Scrapie produced experimentally in goats with special reference to the clinical syndrome. *Journal of comparative pathology*, 71: 101–109. doi: 10.1016/s0368-1742(61)80013-1.
854. Pattison, I.H. (1965) Slow, latent and temperate virus infections, NINDB Monograph 2. / G.J.Gajdusek, G.J.Gibbs, M.P.Alpers, Washington. DC: US Government Printing, 249–257.
855. Pauly, P., Harris, D. (1998) Copper stimulates endocytosis of the prion protein. *J Biol Chem.*, 273: 33107–33110. doi: 10.1074/jbc.273.50.33107.
856. Paushkin, S.V., Kushnirov, V.V., Smirnov, V.N., Ter-Avanesyan, M. D. (1996). Propagation of the yeast prion-like [psi<sup>+</sup>] determinant is mediated by oligomerization of the SUP35-encoded polypeptide chain release factor. *The EMBO journal*, 15(12): 3127–3134.
857. Pearson, G.R., Wyatt, J.M., Gruffydd-Jones, T.J., Hope, J., Chong, A., Higgins, R.J., Scott, A.C., Wells, G.A. (1992). Feline spongiform encephalopathy: fibril and PrP studies. *The Veterinary record*, 131(14): 307–310. doi: 10.1136/vr.131.14.307.
858. Pedachenko E.G., Malisheva T.A. (2011) Prionyi v neyrohirurgii. *UkraYinskiy neyrohirurgichniy zhurnal*, 2: 15–22.
859. Peden, A., McCardle, L., Head, M.W., Love, S., Ward, H.J., Cousens, S.N., ... Ironside, J.W. (2010). Variant CJD infection in the spleen of a neurologically asymptomatic UK adult patient with haemophilia. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia*, 16(2): 296–304. doi: 10.1111/j.1365-2516.2009.02181.x.
860. Peden, A.H., Sarode, D.P., Mulholland, C.R., Barria, M.A., Ritchie, D.L., Ironside, J.W., & Head, M.W. (2014). The prion protein protease sensitivity, stability and seeding activity in variably protease sensitive prionopathy brain tissue suggests molecular overlaps with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta neuropathologica communications*, 2: 152. doi: 10.1186/s40478-014-0152-4.
861. Pedersen, N.S. (2004) Prion diseases in man and animals. *Acta Vet Scand Suppl*, 100: 59–63.



862. Peralta, O.A., Huckle, W.R., Eyestone, W.H. (2012). Developmental expression of the cellular prion protein (PrP(C)) in bovine embryos. *Molecular reproduction and development*, 79(7): 488–498. doi: 10.1002/mrd.22057.

863. Peresedova, A.V., Zavalishin, I.A. (2012) Bolezn Kreyttsfeldta-Yakoba: sovremennyye aspektyi problemyi (obzor literaturyi). *Annalyi klinicheskoy i eksperimentalnoy neurologii*, 6(1): 57–63.

864. Peretz, D., Williamson, R.A., Kaneko, K., Vergara, J., Leclerc, E., Schmitt-Ulms, G., ... Prusiner, S. B. (2001). Antibodies inhibit prion propagation and clear cell cultures of prion infectivity. *Nature*, 412(6848): 739–743. doi: 10.1038/35089090.

865. Perucchini, M., Griffin, K., Miller, M.W., & Goldmann, W. (2008). PrP genotypes of free-ranging wapiti (*Cervus elaphus nelsoni*) with chronic wasting disease. *The Journal of general virology*, 89(5): 1324–1328. doi: 10.1099/vir.0.83424-0.

866. Perutz, M.F., Finch, J.T., Berriman, J., Lesk, A. (2002). Amyloid fibers are water-filled nanotubes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(8): 5591–5595. doi: 10.1073/pnas.042681399.

867. Perutz, M.F., Johnson, T., Suzuki, M., Finch, J.T. (1994). Glutamine repeats as polar zippers: their possible role in inherited neurodegenerative diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(12): 5355–5358. doi: 10.1073/pnas.91.12.5355.

868. Perutz, M.F., Pope, B.J., Owen, D., Wanker, E.E., Scherzinger, E. (2002). Aggregation of proteins with expanded glutamine and alanine repeats of the glutamine-rich and asparagine-rich domains of Sup35 and of the amyloid beta-peptide of amyloid plaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(8): 5596–5600. doi: 10.1073/pnas.042681599.

869. Picard, J. Experts explain deer disease. *Oneida Daily Dispatch News*, 13 May 2005.

870. Piccardo, P., Cervenak, J., Yakovleva, O., Gregori, L., Pomeroy, K., Cook, A., ... Asher, D. M. (2012). Squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) infected with the agent of bovine spongiform encephalopathy develop tau pathology. *Journal of comparative pathology*, 147(1): 84–93. doi: 10.1016/j.jcpa.2011.09.004.

871. Piccardo, P., Dlouhy, S.R., Lievens, P.M., Young, K., Bird, T.D., Nochlin, D., ... Ghetti, B. (1998). Phenotypic variability of Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease is associated with prion protein heterogeneity. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 57(10): 979–988. doi: 10.1097/00005072-199810000-00010.

872. Pirisinu, L., Migliore, S., Di Bari, M.A., Esposito, E., Baron, T., D'Agostino, C., ... Nonno, R. (2011). Molecular discrimination of sheep bovine

spongiform encephalopathy from scrapie. *Emerging infectious diseases*, 17(4): 695–698. doi: 10.3201/eid1704.101215.

873. Pirisinu, L., Nonno, R., Esposito, E., Benestad, S.L., Gambetti, P., Agrimi, U., & Zou, W.Q. (2013). Small ruminant nor98 prions share biochemical features with human gerstmann-sträussler-scheinker disease and variably protease-sensitive prionopathy. *PLoS one*, 8(6): e66405. doi: 10.1371/journal.pone.0066405.

874. Pirisinu, L., Tran, L., Chiappini, B., Vanni, I., Di Bari, M.A., Vaccari, G., ... Benestad, S. L. (2018). Novel Type of Chronic Wasting Disease Detected in Moose (*Alces alces*), Norway. *Emerging infectious diseases*, 24(12): 2210–2218. doi: 10.3201/eid2412.180702.

875. Plazzi, G., Schutz, Y., Cortelli, P., Provini, F., Avoni, P., Heikkila, E., ... Montagna, P. (1997). Motor overactivity and loss of motor circadian rhythm in fatal familial insomnia: an actigraphic study. *Sleep*, 20(9): 739–742. doi: 10.1093/sleep/20.9.739.

876. Plinston, C., Hart, P., Chong, A., Hunter, N., Foster, J., Piccardo, P., Manson, J.C., Barron, R.M. (2011). Increased susceptibility of human-PrP transgenic mice to bovine spongiform encephalopathy infection following passage in sheep. *Journal of virology*, 85(3): 1174–1181. doi: 10.1128/JVI.01578-10.

877. Plinston, C., Hart, P., Hunter, N., Manson, J.C., Barron, R.M. (2014). Increased susceptibility of transgenic mice expressing human PrP to experimental sheep bovine spongiform encephalopathy is not due to increased agent titre in sheep brain tissue. *The Journal of general virology*, 95(8): 1855–1859. doi: 10.1099/vir.0.065730-0.

878. Plummer, P.J. (1946). Scrapie-A Disease of Sheep: A Review of the literature. *Canadian journal of comparative medicine and veterinary science*, 10(2): 49–54.

879. Pokrovskiy, V., Kiselev, O. (1998) Molekulyarnye osnovy prionovyih bolezney. *Vestnik RAMN*, 10: 45–55.

880. Pokrovskii, V.I., Kiselev, O.I., Cherkasskii, B.L. (2004) Priony i prionnye bolezni. M.: RAMN, 384 s.

881. Pokrovskiy, V.I., Lobzin, Yu.V., Volzhanin, V.M., Belozerov, E.S., Bulankov, Yu.I. (2007) Infektsii nervnoy sistemy s progredientnyim techeniem. *SPb.: Foliant*, 284 s.

882. Pokrovskiy, V.I., Pak, S.G., Briko, N.I., Danilkin, B.K. (2009) Infektsionnye bolezni i epidemiologiya /uchebnik. – 2-ye izd., ispr. i dop., 816 s.

883. Pokrovskiy, V.I., Briko, N.I. (2010) Ekologicheskie i meditsinskie problemy biologicheskoy bezopasnosti. *Biozaschita i biobezopasnost*, 1: 10–20.

884. Portaluppi, F., Cortelli, P., Avoni, P., Vergnani, L., Contin, M., Maltoni, P., ... Gambetti, P. (1994). Diurnal blood pressure variation and

hormonal correlates in fatal familial insomnia. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 23(5): 569–576. doi: 10.1161/01.hyp.23.5.569.

885. Portaluppi, F., Cortelli, P., Avoni, P., Vergnani, L., Maltoni, P., Pavani, A., ... Lugaresi, E. (1994). Progressive disruption of the circadian rhythm of melatonin in fatal familial insomnia. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 78(5): 1075–1078. doi: 10.1210/jcem.78.5.8175963.

886. Portaluppi, F., Cortelli, P., Avoni, P., Vergnani, L., Maltoni, P., Pavani, A., ... Roiter, I. (1995). Dissociated 24-hour patterns of somatotropin and prolactin in fatal familial insomnia. *Neuroendocrinology*, 61(6): 731–737. doi: 10.1159/000126901.

887. Prcina, M., Kontsekova, E., Novak, M. (2015) Prion protein prevents heavy metals overloading of cells and thus protects them against their toxicity. *Acta Virol.*, 59(2): 179–184. doi: 10.4149/av\_2015\_02\_179.

888. Priem, J., Langeveld, J.P., van Keulen, L.J., van Zijderveld, F.G., Andreoletti, O., Bossers, A. (2014). Enhanced virulence of sheep-passaged bovine spongiform encephalopathy agent is revealed by decreased polymorphism barriers in prion protein conversion studies. *Journal of virology*, 88(5): 2903–2912. doi: 10.1128/JVI.02446-13.

889. Prince, M.J., Bailey, J.A., Barrowman, P.R., Bishop, K.J., Campbell, G.R., Wood, J.M. (2003). Bovine spongiform encephalopathy. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 22(1): 37–60. doi: 10.20506/rst.22.1.1389.

890. Prinz, M., Heikenwalder, M., Junt, T., Schwarz, P., Glatzel, M., Heppner, F.L., ... Aguzzi, A. (2003). Positioning of follicular dendritic cells within the spleen controls prion neuroinvasion. *Nature*, 425(6961): 957–962. doi: 10.1038/nature02072.

891. Prinz, M., Huber, G., Macpherson, A.J., Heppner, F.L., Glatzel, M., Eugster, H.P., Wagner, N., & Aguzzi, A. (2003). Oral prion infection requires normal numbers of Peyer's patches but not of enteric lymphocytes. *The American journal of pathology*, 162(4): 1103–1111. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63907-7.

892. Priola, S.A., Caughey, B., Race, R.E., Chesebro, B. (1994). Heterologous PrP molecules interfere with accumulation of protease-resistant PrP in scrapie-infected murine neuroblastoma cells. *Journal of virology*, 68(8): 4873–4878. doi: 10.1128/JVI.68.8.4873-4878.1994.

893. Priola, S.A., Chesebro, B. (1995). A single hamster PrP amino acid blocks conversion to protease-resistant PrP in scrapie-infected mouse neuroblastoma cells. *Journal of virology*, 69(12): 7754–7758. doi: 10.1128/JVI.69.12.7754-7758.1995.

894. Priola S.A. (1999). Prion protein and species barriers in the transmissible spongiform encephalopathies. *Biomedicine & pharmacotherapy* =

*Biomedecine & pharmacotherapie*, 53(1): 27–33. doi: 10.1016/s0753-3322(99)80057-2.

895. Pritzkow, S., Morales, R., Moda, F., Khan, U., Telling, G.C., Hoover, E., Soto, C. (2015). Grass plants bind, retain, uptake, and transport infectious prions. *Cell Reports*, 11(8): 1168–1175. doi:10.1016/j.celrep.2015.04.036

896. Privat, N., Levavasseur, E., Yildirim, S., Hannaoui, S., Brandel, J.P., Laplanche, J.L., ... Haik, S. (2017). Region-specific protein misfolding cyclic amplification reproduces brain tropism of prion strains. *The Journal of biological chemistry*, 292(40): 16688–16696. doi: 10.1074/jbc.M117.793646.

897. Promedmail. Feline spongiform encephalopathy, cat – Switzerland. Aug 24, 2003. Archive Number 20030824.2132. Available at <http://www.promedmail.org>. Accessed 19 Sept 2007.

898. Promedmail. Feline spongiform encephalopathy, cheetah – Germany. Sept 13, 2007. Archive Number 20070913.3038. Available at <http://www.promedmail.org>. Accessed 19 Sept 2007.

899. Promed Mail. Chronic wasting disease, elk - South Korea (Kyungsang). Nov 25, 2004. Archive Number 20041125.3155. Available at: <http://www.promedmail.org>. Accessed 30 Sept 2008.

900. Promed Mail. Chronic wasting disease, cervid - Europe (02): (Norway) moose. Archive Number: 20160614.4276448 Available at: <http://www.promedmail.org>. Accessed 28 Jul 2016.

901. Provini F. (2013). *Agrypnia excitata*. *Current neurology and neuroscience reports*, 13(4): 341. doi: 10.1007/s11910-013-0341-8.

902. Prudnikova, S.V. (2008) *Mikrobiologiya s osnovami virusologii*. Krasnoyarsk: IPK SFU, 158 s.

903. Prusiner S.B. An introduction to prion biology and diseases. In: Prusiner S.B., ed. *Prion Biology and Diseases*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2004: 1–87.

904. Prusiner, S.B. (2012) Cell biology. A unifying role for prions in neurodegenerative diseases. *Science*, 336(6088): 1511–1513. doi: 10.1126/science.1222951.

905. Prusiner, S.B., Garfin, D.E., Cochran, S.P., Baringer, J.R., Hadlow, W.J., Eklund, C.M., Race, R.E. (1978) Evidence for hydrophobic domains on the surface of the scrapie agent. *Trans. Am. Neurol. Assoc.*, 103: 62–64.

906. Prusiner, S.B., Groth, D.F., Cochran, S.P., Masiarz, F.R., McKinley, M.P., Martinez, H.M. (1980). Molecular properties, partial purification, and assay by incubation period measurements of the hamster scrapie agent. *Biochemistry*, 19(21): 4883–4891. doi: 10.1021/bi00562a028.

907. Prusiner, S.B., McKinley, M.P., Bowman, K.A., Bolton, D.C., Bendheim, P.E., Groth, D.F., Glenner, G.G. (1983). Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell*, 35(2/1): 349–358. doi: 10.1016/0092-8674(83)90168-x.

908. Prusiner, S.B. (1991) Molecular biology of prion diseases. *Science*, 252(5012): 1515–1522. doi: 10.1126/science.1675487.
909. Prusiner, S.B. (1982) Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216(4542): 136–144. doi: 10.1126/science.6801762.
910. Prusiner, S.B. (1998) Prions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95(23):13363–13383. doi: 10.1073/pnas.95.23.13363.
911. Prusiner, S.B., Scott, M., Foster, D., Pan, K.M., Groth, D., Miranda, C., ... Carlson, G.A. (1990). Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. *Cell*, 63(4): 673–686. doi: 10.1016/0092-8674(90)90134-z.
912. Prusiner, S.B., Scott, M.R., DeArmond, S.J., Cohen, F.E. (1998). Prion protein biology. *Cell*, 93(3): 337–348. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81163-0.
913. Prusiner, S.B., Woerman, A.L., Mordes, D.A., Watts, J.C., Rampersaud, R., Berry, D.B., ... Giles, K. (2015) Evidence for  $\alpha$ -synuclein prions causing multiple system atrophy in humans with parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(38):E5308-17. doi: 10.1073/pnas.1514475112.
914. Pulford, B., Spraker, T.R., Wyckoff, A.C., Meyerett, C., Bender, H., Ferguson, A., ... Zabel, M. D. (2012). Detection of PrPCWD in feces from naturally exposed Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) using protein misfolding cyclic amplification. *Journal of wildlife diseases*, 48(2): 425–434. doi: 10.7589/0090-3558-48.2.425.
915. Qin, K., O'Donnell, M., Zhao, R.Y. (2006) Doppel: more rival than double to prion. *Neuroscience*, 141(1): 1–8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.04.057.
916. Qin, K, Zhao, L., Ash, R., McDonough, W., Zhao, R. (2009) ATM mediated transcriptional elevation of prion in response to copperinduced oxidative stress. *J Biol Chem.*, 284: 4582–4593. doi: 10.1074/jbc.M808410200.
917. Quimby, A.E., Shamy, M.C. (2015). The Canadian Management of Bovine Spongiform Encephalopathy in Historical and Scientific Perspective, 1990–2014. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*, 42(6): 472–481. doi: 10.1017/cjn.2015.286.
918. Race, R., Chesebro, B. (1998). Scrapie infectivity found in resistant species. *Nature*, 392(6678): 770. doi: 10.1038/33834
919. Race, B., Meade-White, K.D., Miller, M.W., Barbian, K.D., Rubenstein, R., LaFauci, G., ... Chesebro, B. (2009). Susceptibilities of nonhuman primates to chronic wasting disease. *Emerging infectious diseases*, 15(9): 1366–1376. doi: 10.3201/eid1509.090253.
920. Race, B., Meade-White, K., Race, R., & Chesebro, B. (2009). Prion infectivity in fat of deer with chronic wasting disease. *Journal of virology*, 83(18): 9608–9610. doi: 10.1128/JVI.01127-09.

921. Race, B., Meade-White, K.D., Phillips, K., Striebel, J., Race, R., Chesebro, B. (2014). Chronic wasting disease agents in nonhuman primates. *Emerging infectious diseases*, 20(5): 833–837. doi: 10.3201/eid2005.130778.

922. Race, B.L., Meade-White, K.D., Ward, A., Jewell, J., Miller, M.W., Williams, E.S., Chesebro, B., & Race, R.E. (2007). Levels of abnormal prion protein in deer and elk with chronic wasting disease. *Emerging infectious diseases*, 13(6): 824–830. doi: 10.3201/eid1306.070186.

923. Race, B., Williams, K., Orrú, C.D., Hughson, A.G., Lubke, L., & Chesebro, B. (2018). Lack of Transmission of Chronic Wasting Disease to *Cynomolgus* Macaques. *Journal of virology*, 92(14): e00550-18. doi: 10.1128/JVI.00550-18.

924. Race, R., Meade-White, K., Raines, A., Raymond, G.J., Caughey, B., Chesebro, B. (2002). Subclinical scrapie infection in a resistant species: persistence, replication, and adaptation of infectivity during four passages. *The Journal of infectious diseases*, 186(2): 166–170. doi: 10.1086/344267.

925. Race, R.E., Priola, S.A., Bessen, R.A., Ernst, D., Dockter, J., Rall, G.F., ... Oldstone, M.B. (1995). Neuron-specific expression of a hamster prion protein minigene in transgenic mice induces susceptibility to hamster scrapie agent. *Neuron*, 15(5): 1183–1191. doi: 10.1016/0896-6273(95)90105-1.

926. Race, R., Raines, A., Raymond, G.J., Caughey, B., Chesebro, B. (2001). Long-term subclinical carrier state precedes scrapie replication and adaptation in a resistant species: analogies to bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Journal of virology*, 75(21): 10106–10112. doi: 10.1128/JVI.75.21.10106-10112.2001.

927. Race, R.E., Raymond, G.J. (2004) Inactivation of Transmissible Spongiform Encephalopathy (Prion) Agents by Environ LpH. *J Virol.*, 78(4): 2164–2165. doi: 10.1128/JVI.78.4.2164-2165.2004.

928. Requena, J.R., Kristensson, K., Korth, C., Zurzolo, C., Simmons, M., Aguilar-Calvo, P., ... Zerr, I. (2016). The Priority position paper: Protecting Europe's food chain from prions. *Prion*, 10(3), 165–181. doi: 10.1080/19336896.2016.1175801.

929. Relevance, T.W.E. Commission Regulation (EC) No 36/2005 of 12 January 2005 amending Annexes III and X to Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council as regards epidemiological surveillance for transmissible spongiform encephalopathies in bovine, ovine and caprine animals.

930. Report of a WHO Consultation (1998). Global Surveillance Diagnosis and Therapy of Human Transmissible Spongiform Encephalopathies. Geneva: 9–11

931. Resenberger, U.K., Harmeier, A., Woerner, A.C., Goodman, J.L., Müller, V., Krishnan, R., ... Tatzelt, J. (2011). The cellular prion protein mediates neurotoxic signalling of  $\beta$ -sheet-rich conformers independent of

prion replication. *The EMBO journal*, 30(10): 2057–2070. doi: 10.1038/emboj.2011.86.

932. Richt, J.A., Kasinathan, P., Hamir, A.N., Castilla, J., Sathiyaseelan, T., Vargas, F., ... Kuroiwa, Y. (2007) Production of cattle lacking prion protein. *Nat Biotechnol.*, 25(1): 132–138. doi: 10.1038/nbt1271.

933. Richt, J.A., Kunkle, R.A., Alt, D., Nicholson, E.M., Hamir, A.N., Czub, S., ... Hall, S. M. (2007). Identification and characterization of two bovine spongiform encephalopathy cases diagnosed in the United States. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 19(2): 142–154. doi: 10.1177/104063870701900202.

934. Riek, R., Hornemann, S., Wider, G., Billeter, M., Glockshuber, R., Wuthrich, K. (1996) NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121-231). *Nature*, 382(6587): 180–182. doi: 10.1038/382180a0.

935. Riesner, D., Kellings, K., Post, K., Wille, H., Serban, H., Groth, D., Baldwin, M.A., Prusiner, S.B. (1996). Disruption of prion rods generates 10-nm spherical particles having high alpha-helical content and lacking scrapie infectivity. *Journal of virology*, 70(3): 1714–1722. doi: 10.1128/JVI.70.3.1714-1722.1996.

936. Ritchie, D.L., Barria, M.A., Peden, A.H., Yull, H.M., Kirkpatrick, J., Adlard, P., Ironside, J.W., Head, M.W. (2017) UK Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease: Investigating human prion transmission across genotypic barriers using human tissue-based and molecular approaches. *Acta Neuropathol*, 133(4): 579–595. doi: 10.1007/s00401-016-1638-x.

937. Ritchie, D.L., & Ironside, J.W. (2017). Neuropathology of Human Prion Diseases. *Progress in molecular biology and translational science*, 150: 319–339. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.06.011.

938. Rivera-Milla, E., Stuermer, C. A., Malaga-Trillo, E. (2003) An evolutionary basis for scrapie disease: identification of a fish prion mRNA. *Trends Genet.*, 19(2): 72–75. doi: 10.1016/s0168-9525(02)00032-x.

939. Robert A. Somerville (2002) TSE agent strains and PrP: reconciling structure and function. *Trends Biochem Sci*, 27(12):606–612. doi: 10.1016/s0968-0004(02)02212-0.

940. Robinson, M.M., Hadlow, W.J., Huff, T.P., Wells, G.A., Dawson, M., Marsh, R.F., Gorham, J.R. (1994). Experimental infection of mink with bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of general virology*, 75 (9): 2151–2155. doi: 10.1099/0022-1317-75-9-2151.

941. Robinson, M.M., Hadlow, W.J., Huff, T.P., Wells, G.A., Dawson, M., Marsh, R.F., Gorham, J.R. (1994). Experimental infection of mink with bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of general virology*, 75 (9): 2151–2155. doi: 10.1099/0022-1317-75-9-2151.

942. Robinson, M.M., Hadlow, W.J., Knowles, D.P., Huff, T.P., Lacy, P.A., Marsh, R.F., Gorham, J.R. (1995). Experimental infection of cattle with the agents of transmissible mink encephalopathy and scrapie. *Journal of comparative pathology*, 113(3): 241–251. doi: 10.1016/s0021-9975(05)80039-8.
943. Robinson, S.J., Samuel, M.D., O'Rourke, K.I., Johnson, C.J. (2012). The role of genetics in chronic wasting disease of North American cervids. *Prion*, 6(2): 153–162. doi: 10.4161/pri.19640.
944. Rodriguez, J.A., Jiang, L., Eisenberg, D.S. (2017). Toward the Atomic Structure of PrP<sup>Sc</sup>. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 9(9): a031336. doi: 10.1101/cshperspect.a031336.
945. Rodríguez-Martínez, A.B., Garrido, J.M., Maza, S., Benedicto, L., Geijo, M., Gómez, N., ... Juste, R.A. (2010). Atypical/Nor98 scrapie in the Basque Country: a case report of eight outbreaks. *BMC veterinary research*, 6: 17. doi: 10.1186/1746-6148-6-17.
946. Rodríguez-Martínez, A.B., Garrido, J.M., Zarranz, J.J., Arteagoitia, J.M., de Pancorbo, M.M., Atarés, B., ... Juste, R. A. (2010). A novel form of human disease with a protease-sensitive prion protein and heterozygosity methionine/valine at codon 129: Case report. *BMC neurology*, 10: 99. doi: 10.1186/1471-2377-10-99.
947. Rodríguez-Martínez, A.B., López de Munain, A., Ferrer, I., Zarranz, J.J., Atarés, B., Villagra, N.T., ... Juste, R.A. (2012). Coexistence of protease sensitive and resistant prion protein in 129VV homozygous sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: a case report. *Journal of medical case reports*, 6: 348. doi: 10.1186/1752-1947-6-348.
948. Rogez-Kreuz, C., Yousfi, R., Soufflet, C., Quadrio, I., Yan, Z.X., Huyot, V., ... Clayette, P. (2009). Inactivation of animal and human prions by hydrogen peroxide gas plasma sterilization. *Infection control and hospital epidemiology*, 30(8), 769–777. doi: 10.1086/598342.
949. Ronzon, F., Bencsik, A., Lezmi, S., Vulin, J., Kodjo, A., Baron, T. (2006). BSE inoculation to prion diseases-resistant sheep reveals tricky silent carriers. *Biochemical and biophysical research communications*, 350(4): 872–877. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.09.137.
950. Roucou, X., Gains, M., LeBlanc, A. (2004) Neuroprotective functions of prion protein. *J Neurosci Res.*, 75(2): 153–161. doi: 10.1002/jnr.10864.
951. Roucou, X., LeBlanc, A. (2005) Cellular prion protein neuroprotective function: implications in prion diseases. *J Mol Med.*, 83: 3–11. doi: 10.1007/s00109-004-0605-5.
952. Rowe, D.B., Lewis, V., Needham, M., Rodriguez, M., Boyd, A., McLean, C., ... Collins, S.J. (2007). Novel prion protein gene mutation presenting with subacute PSP-like syndrome. *Neurology*, 68(11): 868–870. doi: 10.1212/01.wnl.0000256819.61531.98.



953. Rubenstein, R., Bulgin, M.S., Chang, B., Sorensen-Melson, S., Petersen, R.B., & LaFauci, G. (2012). PrP(Sc) detection and infectivity in semen from scrapie-infected sheep. *The Journal of general virology*, 93(6): 1375–1383. doi: 10.1099/vir.0.038802-0.
954. Rubenstein, R., Chang, B., Gray, P., Piltch, M., Bulgin, M. S., Sorensen-Melson, S., Miller, M.W. (2011). Prion disease detection, PMCA kinetics, and IgG in urine from sheep naturally/experimentally infected with scrapie and deer with preclinical/clinical chronic wasting disease. *Journal of virology*, 85(17): 9031–9038. doi: 10.1128/JVI.05111-11.
955. Rubenstein, R., Chang, B. (2013). Re-assessment of PrP(Sc) distribution in sporadic and variant CJD. *PloS one*, 8(7): e66352. doi: 10.1371/journal.pone.0066352.
956. Rutala, W.A., Weber, D.J., Society for Healthcare Epidemiology of America (2010). Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments. *Infection control and hospital epidemiology*, 31(2): 107–117. doi: 10.1086/650197.
957. Ryan, R., Hill, S., Lowe, D., Allen, K., Taylor, M., Mead, C. (2011). Notification and support for people exposed to the risk of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) (or other prion diseases) through medical treatment (iatrogenically). *The Cochrane database of systematic reviews*, 16(3): CD007578. doi: 10.1002/14651858.CD007578.pub2.
958. Ryder, S.J., Dexter, G.E., Heasman, L., Warner, R., & Moore, S.J. (2009). Accumulation and dissemination of prion protein in experimental sheep scrapie in the natural host. *BMC veterinary research*, 5: 9. doi: 10.1186/1746-6148-5-9.
959. Ryder, S.J., Wells, G.A., Bradshaw, J.M., Pearson, G.R. (2001). Inconsistent detection of PrP in extraneural tissues of cats with feline spongiform encephalopathy. *The Veterinary record*, 148(14): 437–441. doi: 10.1136/vr.148.14.437.
960. Saá, P., Castilla, J., Soto, C. (2006). Presymptomatic detection of prions in blood. *Science (New York, N.Y.)*, 313(5783): 92–94. doi: 10.1126/science.1129051.
961. Saá, P., Cervenakova, L. (2015). Protein misfolding cyclic amplification (PMCA): Current status and future directions. *Virus research*, 207: 47–61. doi: 10.1016/j.virusres.2014.11.007.
962. Saba, R., Booth, S.A. (2013). The genetics of susceptibility to variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Public health genomics*, 16(1–2): 17–24. doi: 10.1159/000345203.
963. Saborio, G.P., Permanne, B., Soto, C. (2001). Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature*, 411(6839): 810–813. doi: 10.1038/35081095.

964. Safar, J.G., DeArmond, S.J., Kociuba, K., Deering, C., Didorenko, S., Bouzamondo-Bernstein, E., Prusiner, S.B., Tremblay, P. (2005). Prion clearance in bigenic mice. *The Journal of general virology*, 86(10): 2913–2923. doi: 10.1099/vir.0.80947-0.
965. Safar, J.G., Geschwind, M.D., Deering, C., Didorenko, S., Sattavat, M., Sanchez, H., ... Prusiner, S.B. (2005). Diagnosis of human prion disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(9): 3501–3506. doi: 10.1073/pnas.0409651102.
966. Safar, J., Wille, H., Itri, V., Groth, D., Serban, H., Torchia, M., Cohen, F.E., Prusiner, S.B. (1998). Eight prion strains have PrP(Sc) molecules with different conformations. *Nature medicine*, 4(10): 1157–1165. doi: 10.1038/2654.
967. Saitoh, Y., Ogawa, M., Naito, Y., Komatsuzaki, Y., Tagaya, H., Arima, K., ... Murata, M. (2010). Discordant clinicopathologic phenotypes in a Japanese kindred of fatal familial insomnia. *Neurology*, 74(1): 86–89. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181c7da09.
968. Sajnani, G., Silva, C.J., Ramos, A., Pastrana, M.A., Onisko, B.C., Erickson, M.L., ... Requena, J.R. (2012). PK-sensitive PrP is infectious and shares basic structural features with PK-resistant PrP. *PLoS pathogens*, 8(3): e1002547. doi: 10.1371/journal.ppat.1002547.
969. Sakudo, A., Ano, Y., Onodera, T., Nitta, K., Shintani, H., Ikuta, K., Tanaka, Y. (2011). Fundamentals of prions and their inactivation (review). *International journal of molecular medicine*, 27(4): 483–489. doi: 10.3892/ijmm.2011.605.
970. Sakudo A. (2020). Chronic Wasting Disease: Current Assessment of Transmissibility. *Current issues in molecular biology*, 36: 13–22. doi: 10.21775/cimb.036.013.
971. Sakudo, A., Ikuta, K. (2009). Fundamentals of prion diseases and their involvement in the loss of function of cellular prion protein. *Protein and peptide letters*, 16(3): 217–229. doi: 10.2174/092986609787601732.
972. Sakudo, A., Onodera, T., Sukanuma, Y., Kobayashi, T., Saeki, K., & Ikuta, K. (2006). Recent advances in clarifying prion protein functions using knockout mice and derived cell lines. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 6(5): 589–601. doi: 10.2174/138955706776876159.
973. Salta, E., Panagiotidis, C., Teliouisis, K., Petrakis, S., Eleftheriadis, E., Arapoglou, F., ... Sklaviadis, T. (2009). Evaluation of the possible transmission of BSE and scrapie to gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *PloS one*, 4(7): e6175. doi: 10.1371/journal.pone.0006175.
974. Sánchez-Alavez, M., Conti, B., Moroncini, G., Criado, J.R. (2007). Contributions of neuronal prion protein on sleep recovery and stress response following sleep deprivation. *Brain research*, 1158: 71–80. doi: 10.1016/j.brainres.2007.05.010.

975. Sandberg, M.K., Al-Doujaily, H., Sharps, B., Clarke, A.R., Collinge, J. (2011). Prion propagation and toxicity in vivo occur in two distinct mechanistic phases. *Nature*, 470(7335): 540–542. doi: 10.1038/nature09768.
976. Sano, K., Satoh, K., Atarashi, R., Takashima, H., Iwasaki, Y., Yoshida, M., ... Nishida, N. (2013). Early detection of abnormal prion protein in genetic human prion diseases now possible using real-time QUIC assay. *PLoS one*, 8(1): e54915. doi: 10.1371/journal.pone.0054915.
977. Santoso, A., Chien, P., Osheroich, L.Z., Weissman, J.S. (2000). Molecular basis of a yeast prion species barrier. *Cell*, 100(2): 277–288. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81565-2.
978. Sarradin, P., Viglietta, C., Limouzin, C., Andréoletti, O., Daniel-Carlier, N., Barc, C., ... Houdebine, L.M. (2015). Transgenic Rabbits Expressing Ovine PrP Are Susceptible to Scrapie. *PLoS pathogens*, 11(8): e1005077. doi: 10.1371/journal.ppat.1005077.
979. Saunders, S.E., Bartelt-Hunt, S.L., Bartz, J.C. (2008). Prions in the environment: occurrence, fate and mitigation. *Prion*, 2(4): 162–169. doi: 10.4161/pri.2.4.7951.
980. Saunders, S.E., Bartelt-Hunt, S.L., Bartz, J.C. (2012). Occurrence, transmission, and zoonotic potential of chronic wasting disease. *Emerging infectious diseases*, 18(3): 369–376. doi: 10.3201/eid1803.110685.
981. Saunders, G.C., Cawthraw, S., Mountjoy, S.J., Hope, J., Windl, O. (2006). PrP genotypes of atypical scrapie cases in Great Britain. *The Journal of general virology*, 87(11): 3141–3149. doi: 10.1099/vir.0.81779-0.
982. Schmitz, M., Dittmar, K., Llorens, F., Gelpi, E., Ferrer, I., Schulz-Schaeffer, W. J., & Zerr, I. (2017). Hereditary Human Prion Diseases: an Update. *Molecular neurobiology*, 54(6): 4138–4149. doi:10.1007/s12035-016-9918-y.
983. Schätzl, H.M., Wopfner, F., Gilch, S., von Brunn, A., & Jäger, G. (1997). Is codon 129 of prion protein polymorphic in human beings but not in animals? *Lancet (London, England)*, 349(9065): 1603–1604. doi: 10.1016/S0140-6736(05)61632-7.
984. Schenkein, J., & Montagna, P. (2006). Self management of fatal familial insomnia. Part 1: what is FFI?. *MedGenMed : Medscape general medicine*, 8(3): 65.
985. Schmerr, M.J., Jenny, A.L., Bulgin, M.S., Miller, J.M., Hamir, A.N., Cutlip, R.C., & Goodwin, K.R. (1999). Use of capillary electrophoresis and fluorescent labeled peptides to detect the abnormal prion protein in the blood of animals that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy. *Journal of chromatography. A*, 853(1–2): 207–214. doi: 10.1016/s0021-9673(99)00514-2.
986. Schmitz, M., Dittmar, K., Llorens, F., Gelpi, E., Ferrer, I., Schulz-Schaeffer, W. J., & Zerr, I. (2017). Hereditary Human Prion Diseases: an

Update. *Molecular neurobiology*, 54(6): 4138–4149. doi: 10.1007/s12035-016-9918-y.

987. Schneider, D.A., Harrington, R.D., Zhuang, D., Yan, H., Truscott, T.C., Dassanayake, R.P., O'Rourke, K.I. (2012). Disease-associated prion protein in neural and lymphoid tissues of mink (*Mustela vison*) inoculated with transmissible mink encephalopathy. *Journal of comparative pathology*, 147(4): 508–521. doi: 10.1016/j.jcpa.2012.03.008.

988. Schneider, D.A., Madsen-Bouterse, S.A., Zhuang, D., Truscott, T.C., Dassanayake, R.P., O'Rourke, K.I. (2015). The placenta shed from goats with classical scrapie is infectious to goat kids and lambs. *The Journal of general virology*, 96(8): 2464–2469. doi: 10.1099/vir.0.000151.

989. Schuler, K.L., Jenks, J.A., DePerno, C.S., Wild, M.A., Swanson, C.C. (2005). Tonsillar biopsy test for chronic wasting disease: Two sampling approaches in mule deer and white-tailed deer. *Journal of wildlife diseases*, 41(4): 820–824. doi: 10.7589/0090-3558-41.4.820.

990. Schulz-Schaeffer, W.J., Tschoke, S., Kranefuss, N., Drose, W., Hause-Reitner, D., Giese, A., Groschup, M.H., Kretzschmar, H.A. (2000) The paraffin-embedded tissue blot detects PrP<sup>sc</sup> early in the incubation time in prion diseases. *Am. J. Pathol.*, 156: 51–56.

991. Schwimmer, C., Masison, D.C. (2002). Antagonistic interactions between yeast [PSI(+)] and [URE3] prions and curing of [URE3] by Hsp70 protein chaperone Ssa1p but not by Ssa2p. *Molecular and cellular biology*, 22(11): 3590–3598. doi: 10.1128/MCB.22.11.3590-3598.2002.

992. Scott, M., Foster, D., Mirenda, C., Serban, D., Coufal, F., Wälchli, M., ... Prusiner, S. B. (1989). Transgenic mice expressing hamster prion protein produce species-specific scrapie infectivity and amyloid plaques. *Cell*, 59(5): 847–857. doi: 10.1016/0092-8674(89)90608-9.

993. Scott, M.R., Will, R., Ironside, J., Nguyen, H.-O., Tremblay, P., DeArmond, S., Prusiner, S. (1996) Compelling transgenetic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc Natl Acad Sci.*, 96: 15137–15142. doi: 10.1073/pnas.96.26.15137.

994. Scott, M.R., Will, R., Ironside, J., Nguyen, H.O., Tremblay, P., DeArmond, S. J., Prusiner, S. B. (1999). Compelling transgenetic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(26): 15137–15142. doi: 10.1073/pnas.96.26.15137.

995. Seelig, D.M., Mason, G.L., Telling, G.C., & Hoover, E.A. (2010). Pathogenesis of chronic wasting disease in cervidized transgenic mice. *The American journal of pathology*, 176(6): 2785–2797. doi: 10.2353/ajpath.2010.090710.

996. Seelig, D.M., Nalls, A.V., Flasik, M., Frank, V., Eaton, S., Mathiason, C.K., Hoover, E.A. (2015). Lesion profiling and subcellular prion localization of

cervid chronic wasting disease in domestic cats. *Veterinary pathology*, 52(1): 107–119. doi: 10.1177/0300985814524798.

997. Sejvar, J.J., Schonberger, L.B., Belay, E.D. (2008) Transmissible spongiform encephalopathies. *J Am Vet Med Assoc*, 233(11): 1705–1712. doi: 10.2460/javma.233.11.1705.

998. Selkoe, D.J. (2003). Folding proteins in fatal ways. *Nature*, 426(6968): 900–904. doi: 10.1038/nature02264.

999. Seong, Y.J., Sung, P.S., Jang, Y.S., Choi, Y.J., Park, B.C., Park, S.H., Park, Y.W., Shin, E.C. (2015) Activation of human natural killer cells by the soluble form of cellular prion protein. *Biochem Biophys Res Commun.*, 464(2): 512–518. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.06.172

1000. Serio, T.R., Cashikar, A.G., Kowal, A.S., Sawicki, G.J., Moslehi, J.J., Serpell, L., Arnsdorf, M.F., Lindquist, S.L. (2000) Nucleated conformational conversion and the replication of conformational information by a prion determinant. *Science*, 289(5483): 1317–1321. doi: 10.1126/science.289.5483.1317.

1001. Seuberlich, T., Botteron, C., Benestad, S.L., Brünisholz, H., Wyss, R., Kihm, U., ... Zurbriggen, A. (2007). Atypical scrapie in a Swiss goat and implications for transmissible spongiform encephalopathy surveillance. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 19(1): 2–8. doi: 10.1177/104063870701900102.

1002. Seuberlich, T., Heim, D., Zurbriggen, A. (2010). Atypical transmissible spongiform encephalopathies in ruminants: a challenge for disease surveillance and control. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 22(6): 823–842. doi: 10.1177/104063871002200601.

1003. Seuberlich T. (2014) Overview of bovine encephalopathy. Kahn CM, Line S, Aiello SE, editors. The Merck veterinary manual [online]. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co; Bovine spongiform encephalopathy. Available at: [http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous\\_system/bovine\\_spongiform\\_encephalopathy/overview\\_of\\_bovine\\_spongiform\\_encephalopathy.html](http://www.merckvetmanual.com/mvm/nervous_system/bovine_spongiform_encephalopathy/overview_of_bovine_spongiform_encephalopathy.html). Accessed 26 Aug 2016.

1004. Shibuya, S., Higuchi, J., Shin, R.W., Tateishi, J., Kitamoto, T. (1998). Protective prion protein polymorphisms against sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet (London, England)*, 351(9100): 419. doi: 10.1016/S0140-6736(05)78358-6.

1005. Shikiya, R.A., Langenfeld, K.A., Eckland, T.E., Trinh, J., Holec, S., Mathiason, C.K., Kincaid, A.E., Bartz, J.C. (2017). PrP<sup>Sc</sup> formation and clearance as determinants of prion tropism. *PLoS pathogens*, 13(3): e1006298. doi: 10.1371/journal.ppat.1006298.

1006. Shimada, K., Hayashi, H.K., Ookubo, Y., Iwamaru, Y., Imamura, M., Takata, M., ... Yokoyama, T. (2005). Rapid PrP(Sc) detection in lymphoid tissue and application to scrapie surveillance of fallen stock in Japan: variable PrP(Sc) accumulation in palatal tonsil in natural scrapie. *Microbiology and immunology*, 49(8): 801–804. doi: 10.1111/j.1348-0421.2005.tb03660.x.
1007. Shitikova, Irina Evgenevna (1999) Prionnyie bolezni: klinika, diagnostika i patologicheskaya anatomiya. Shitikova, I.E.: avtoreferat dissertatsii kandidata meditsinskih nauk: 14.00.13. Moskva, 32 c.
1008. Shkundina, I.S., Ter-Avanesyan, M.D. (2006) Prionyi. *Uspehi biologicheskoy himii*, 46: 3–42.
1009. Shkundina, I.S., Ter-Avanesyan, M.D. (2007). Prions. *Biochemistry. Biokhimiia*, 72(13), 1519–1536. doi: 10.1134/s0006297907130081.
1010. Shmakov, A.N., & Ghosh, S. (2001). Prion proteins and the gut: une liaison dangereuse?. *Gut*, 48(4): 443–447. doi: 10.1136/gut.48.4.443.
1011. Shnayder, N.A. (2014) Istoriya transmissivnyih spongioformnyih entsefalopatii cheloveka: ot kuru do novogo varianta bolezni Kreyttsfeldta-Yakoba. *Zhurnal nevrologii i psihiatrii im. S.S. Korsakova*. 114(1): 58–70.
1012. Shnayder N.A. (2007) Transmissivnaya spongioformnaya entsefalopatiya: bolezn Kreyttsfelda-Yakoba. *Zdorov'ya Ukraini: gazeta*, 6/1: 37–41.
1013. Shorter, J., Lindquist, S. (2004). Hsp104 catalyzes formation and elimination of self-replicating Sup35 prion conformers. *Science (New York, N.Y.)*, 304(5678): 1793–1797. doi: 10.1126/science.1098007.
1014. Shorter, J. (2010) Emergence and natural selection of drug-resistant prions. *Mol Biosyst.*, 6(7): 1115–1130. doi: 10.1039/c004550k.
1015. Shuleshova, N.V., Lovitskiy, S.V., Platonova, I.S., Dvorakovskaya, I.V., Baykov, V.V. (2014) Transmissivnaya gubchataya entsefalopatiya. *Uchenyie zapiski SPbGMU im. akad. I.P. Pavlova*, 21(2): 40–43.
1016. Sigurdsson, B. (1954) Rida, a chronic encephalitis of sheep. *British Veterinary Journal*, 110: 341–354.
1017. Sigurdarson, S. (1991) Epidemiology of scrapie in Iceland and experience with control measures. In Sub-acute spongiform encephalopathies. Edited by R. Bradley, M. Savey, B. Marchant. *Dordrecht: Kluwer Academic*, 233–242.
1018. Sigurdson, C.J., Barillas-Mury, C., Miller, M.W., Oesch, B., van Keulen, L., Langeveld, J., & Hoover, E.A. (2002). PrP(CWD) lymphoid cell targets in early and advanced chronic wasting disease of mule deer. *The Journal of general virology*, 83(10): 2617–2628. doi: 10.1099/0022-1317-83-10-2617.
1019. Sigurdson, C.J., Manco, G., Schwarz, P., Liberski, P., Hoover, E.A., Hornemann, S., ... Aguzzi, A. (2006). Strain fidelity of chronic wasting disease upon murine adaptation. *Journal of virology*, 80(24): 12303–12311. doi: 10.1128/JVI.01120-06.

1020. Sigurdson, C.J., Mathiason, C.K., Perrott, M.R., Eliason, G. A., Spraker, T.R., Glatzel, M., ... Hoover, E.A. (2008). Experimental chronic wasting disease (CWD) in the ferret. *Journal of comparative pathology*, 138(4): 189–196. doi: 10.1016/j.jcpa.2008.01.004.

1021. Sigurdson, C.J., Spraker, T.R., Miller, M.W., Oesch, B., & Hoover, E.A. (2001). PrP(CWD) in the myenteric plexus, vagosympathetic trunk and endocrine glands of deer with chronic wasting disease. *The Journal of general virology*, 82(10): 2327–2334. doi: 10.1099/0022-1317-82-10-2327.

1022. Sigurdson, C. J., Williams, E. S., Miller, M. W., Spraker, T. R., O'Rourke, K. I., & Hoover, E. A. (1999). Oral transmission and early lymphoid tropism of chronic wasting disease PrPres in mule deer fawns (*Odocoileus hemionus*). *The Journal of general virology*, 80 (10): 2757–2764. doi: 10.1099/0022-1317-80-10-2757.

1023. Sigurdsson, E.M., Sy, M.S., Li, R., Scholtzova, H., Kascsak, R.J., Kascsak, R., ... Wisniewski, T. (2003). Anti-prion antibodies for prophylaxis following prion exposure in mice. *Neuroscience letters*, 336(3): 185–187. doi: 10.1016.

1024. Si, K., Giustetto, M., Etkin, A., Hsu, R., Janisiewicz, A.M., Miniaci, M.C., ... Kandel, E. R. (2003). A neuronal isoform of CPEB regulates local protein synthesis and stabilizes synapse-specific long-term facilitation in aplysia. *Cell*, 115(7): 893–904. doi: 10.1016/s0092-8674(03)01021-3.

1025. Si, K., Lindquist, S., Kandel, E.R. (2003). A neuronal isoform of the aplysia CPEB has prion-like properties. *Cell*, 115(7): 879–891. doi: 10.1016/s0092-8674(03)01020-1.

1026. Sikorska, B., & Liberski, P. P. (2012). Human prion diseases: from Kuru to variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Sub-cellular biochemistry*, 65: 457–496. doi: 10.1007/978-94-007-5416-4\_17.

1027. Silva, C.J., Erickson-Beltran, M.L., Dynin, I.C. (2016). Covalent Surface Modification of Prions: A Mass Spectrometry-Based Means of Detecting Distinctive Structural Features of Prion Strains. *Biochemistry*, 55(6): 894–902. doi: 10.1021/acs.biochem.5b01068.

1028. Silva, C.J., Vázquez-Fernández, E., Onisko, B., Requena, J.R. (2015). Proteinase K and the structure of PrPSc: The good, the bad and the ugly. *Virus research*, 207: 120–126. doi:10.1016/j.virusres.2015.03.008.

1029. Silva, J., Correia, J., Ribeiro, J., Carmo, S., Orge, L. Feline Spongiform Encephalopathy: First Confirmed Case in Portugal. Abstract Book, Poster Session-Diagnosis [DIA-45]:392. In Proceedings of the Prion 2006, Torino, Italy, 4–6 October 2006; Available online: [https://www.researchgate.net/publication/216830198\\_Feline\\_spongiform\\_encephalopathy\\_first\\_confirmed\\_case\\_in\\_Portugal](https://www.researchgate.net/publication/216830198_Feline_spongiform_encephalopathy_first_confirmed_case_in_Portugal) (accessed on 21 January 2021).

1030. Silva, J.L., Vieira, T.C.R.G., Gomes, M.P.B., Rangel, L.P., Sca-pin, S.M.N., Cordeiro, Y. (2011) Experimental approaches to the interaction

of the prion protein with nucleic acids and glycosaminoglycans: Modulators of the pathogenic conversion. *Methods*, 53(3): 306–317. doi: 10.1016/j.ymeth.2010.12.002.

1031. Silveira, J.R., Raymond, G.J., Hughson, A.G., Race, R.E., Sim, V.L., Hayes, S.F., Caughey, B. (2005). The most infectious prion protein particles. *Nature*, 437(7056): 257–261. doi: 10.1038/nature03989.

1032. Sim, V.L., Caughey, B. (2009). Recent advances in prion chemotherapeutics. *Infectious disorders drug targets*, 9(1): 81–91. doi: 10.2174/1871526510909010081.

1033. Simmons, M.M., Konold, T., Simmons, H.A., Spencer, Y.I., Lockey, R., Spiropoulos, J., Everitt, S., Clifford, D. (2007). Experimental transmission of atypical scrapie to sheep. *BMC veterinary research*, 3: 20. doi: 10.1186/1746-6148-3-20.

1034. Simmons, M.M., Moore, S.J., Konold, T., Thurston, L., Terry, L.A., Thorne, L., ... Spiropoulos, J. (2011). Experimental oral transmission of atypical scrapie to sheep. *Emerging infectious diseases*, 17(5): 848–854. doi: 10.3201/eid1705.101654.

1035. Simmons, M.M., Moore, S.J., Lockey, R., Chaplin, M.J., Konold, T., Vickery, C., Spiropoulos, J. (2015). Phenotype shift from atypical scrapie to CH1641 following experimental transmission in sheep. *PLoS one*, 10(2): e0117063. doi: 10.1371/journal.pone.0117063.

1036. Simoneau, S., Rezaei, H., Salès, N., Kaiser-Schulz, G., Lefebvre-Roque, M., Vidal, C., ... Lasmézas, C.I. (2007). In vitro and in vivo neurotoxicity of prion protein oligomers. *PLoS pathogens*, 3(8): e125. doi: 10.1371/journal.ppat.0030125.

1037. Simonic, T., Duga, S., Strumbo, B., Asselta, R., Ceciliani, F., Ronchi, S. (2000). cDNA cloning of turtle prion protein. *FEBS letters*, 469(1): 33–38. doi: 10.1016/s0014-5793(00)01232-1.

1038. Singh, J., Udgaonkar, J.B. (2015). Molecular Mechanism of the Misfolding and Oligomerization of the Prion Protein: Current Understanding and Its Implications. *Biochemistry*, 54(29): 4431–4442. doi: 10.1021/acs.biochem.5b00605.

1039. Sisó, S., Jeffrey, M., & González, L. (2009). Neuroinvasion in sheep transmissible spongiform encephalopathies: the role of the haematogenous route. *Neuropathology and applied neurobiology*, 35(3): 232–246. doi: 10.1111/j.1365-2990.2008.00978.x.

1040. Sisó, S., Jeffrey, M., Martin, S., Chianini, F., Dagleish, M.P., & González, L. (2010). Characterization of strains of ovine transmissible spongiform encephalopathy with a short PrPd profiling method. *Journal of comparative pathology*, 142(4): 300–310. doi: 10.1016/j.jcpa.2009.12.003.

1041. Sforza, E., Montagna, P., Tinuper, P., Cortelli, P., Avoni, P., Ferrillo, F., ... Lugaresi, E. (1995). Sleep-wake cycle abnormalities in fatal familial



insomnia. Evidence of the role of the thalamus in sleep regulation. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 94(6): 398–405. doi: 10.1016/0013-4694(94)00318-f.

1042. Slugin, V.S. (2004) Bolezni pushnykh zveri i ikh etiologicheskaya svyaz' s patologiei drugikh zhivotnykh i cheloveka. Kirov, pp.149–154.

1043. Smith, M., Sherman, D. (1994) Goat medicine. Pennsylvania: Lea and Febiger; Scrapie; p. 133–135.

1044. Smith, P.G., Bradley, R. (2003). Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its epidemiology. *British medical bulletin*, 66: 185–198. doi: 10.1093/bmb/66.1.185.

1045. Smith, C.B., Booth, C.J., Pedersen, J.A. (2011). Fate of prions in soil: a review. *Journal of environmental quality*, 40(2): 449–461. doi: 10.2134/jeq2010.0412.

1046. Smith, J.D., Nicholson, E.M., Greenlee, J.J. (2013). Evaluation of a combinatorial approach to prion inactivation using an oxidizing agent, SDS, and proteinase K. *BMC veterinary research*, 9: 151. doi: 10.1186/1746-6148-9-151.

1047. Sofianidis, G., Psychas, V., Billinis, C., Spyrou, V., Argyroudis, S., Vlemmas, I. (2008). Atypical PrPsc distribution in goats naturally affected with scrapie. *Journal of comparative pathology*, 138(2–3): 90–101. doi: 10.1016/j.jcpa.2007.11.006.

1048. Sohn, H.J., Kim, J.H., Choi, K.S., Nah, J.J., Joo, Y.S., Jean, Y.H., ... Balachandran, A. (2002). A case of chronic wasting disease in an elk imported to Korea from Canada. *The Journal of veterinary medical science*, 64(9): 855–858. doi: 10.1292/jvms.64.855.

1049. Sohn, H.J., Lee, Y.H., Green, R.B., Spencer, Y.I., Hawkins, S.A., Stack, M. J., ... Joo, Y. S. (2009). Bone marrow infectivity in cattle exposed to the bovine spongiform encephalopathy agent. *The Veterinary record*, 164(9): 272–273. doi: 10.1136/vr.164.9.272.

1050. Sondheimer, N., Lindquist, S. (2000). Rnq1: an epigenetic modifier of protein function in yeast. *Molecular cell*, 5(1): 163–172. doi: 10.1016/s1097-2765(00)80412-8.

1051. Sondheimer, N., Lopez, N., Craig, E.A., Lindquist, S. (2001). The role of Sis1 in the maintenance of the [RNQ+] prion. *The EMBO journal*, 20(10), 2435–2442. doi:10.1093/emboj/20.10.2435.

1052. Soscia, S.J., Kirby, J.E., Washicosky, K.J., Tucker, S.M., Ingelsson, M., Hyman, B., ... Moir, R.D. (2010) The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*, 5(3): e9505. doi: 10.1371/journal.pone.0009505.

1053. Soto, C., Anderes, L., Suardi, S., Cardone, F., Castilla, J., Frossard, M.J., ... Tagliavini, F. (2005). Pre-symptomatic detection of prions by cyclic amplification of protein misfolding. *FEBS letters*, 579(3): 638–642. doi: 10.1016/j.febslet.2004.12.035.

1054. Soto, C., Kascsak, R. J., Saborío, G.P., Aucouturier, P., Wisniewski, T., Prelli, F., ... Frangione, B. (2000). Reversion of prion protein conformational changes by synthetic beta-sheet breaker peptides. *Lancet (London, England)*, 355(9199): 192–197. doi: 10.1016/s0140-6736(99)11419-3.
1055. Soto, C., Saborio, G.P., Anderes, L. (2002). Cyclic amplification of protein misfolding: application to prion-related disorders and beyond. *Trends in neurosciences*, 25(8): 390–394. doi: 10.1016/s0166-2236(02)02195-1.
1056. Sparkes, R.S., Simon, M., Cohn, V.H., Fournier, R.E., Lem, J., Klisak, I., ... Mohandas, T. (1986). Assignment of the human and mouse prion protein genes to homologous chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(19): 7358–7362. doi: 10.1073/pnas.83.19.7358.
1057. Spencer, M.D., Knight, R.S., Will, R.G. (2002). First hundred cases of variant Creutzfeldt-Jakob disease: retrospective case note review of early psychiatric and neurological features. *BMJ (Clinical research ed.)*, 324(7352): 1479–1482. doi: 10.1136/bmj.324.7352.1479.
1058. Spiropoulos, J., Lockey, R., Sallis, R.E., Terry, L.A., Thorne, L., Holder, T. M., Beck, K.E., Simmons, M.M. (2011). Isolation of prion with BSE properties from farmed goat. *Emerging infectious diseases*, 17(12): 2253–2261. doi: 10.3201/eid1712.110333.
1059. Spiropoulos, J., Hawkins, S.A., Simmons, M.M., Bellworthy, S.J. (2014). Evidence of in utero transmission of classical scrapie in sheep. *Journal of virology*, 88(8): 4591–4594. doi: 10.1128/JVI.03264-13.
1060. Spocter, M.A., Hopkins, W.D., Barks, S.K., Bianchi, S., Hehmeyer, A.E., Anderson, S.M., ... Sherwood, C.C. (2012) Neuropil distribution in the cerebral cortex differs between humans and chimpanzees. *J Comp Neurol.*, 520(13): 2917– 2929. doi: 10.1002/cne.23074.
1061. Spraker, T.R., Balachandran, A., Zhuang, D., & O'Rourke, K.I. (2004). Variable patterns of distribution of PrP(CWD) in the obex and cranial lymphoid tissues of Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*) with subclinical chronic wasting disease. *The Veterinary record*, 155(10): 295–302. doi: 10.1136/vr.155.10.295.
1062. Spraker, T.R., O'Rourke, K.I., Gidlewski, T., Powers, J.G., Greenlee, J.J., & Wild, M.A. (2010). Detection of the abnormal isoform of the prion protein associated with chronic wasting disease in the optic pathways of the brain and retina of Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*). *Veterinary pathology*, 47(3): 536–546. doi: 10.1177/0300985810363702.
1063. Srivastava, S., Katorcha, E., Daus, M.L., Lasch, P., Beekes, M., Baskakov, I.V. (2017). Sialylation Controls Prion Fate *in Vivo*. *The Journal of biological chemistry*, 292(6): 2359–2368. doi: 10.1074/jbc.M116.768010.
1064. Stack, M.J., Chaplin, M.J., Clark, J. (2002). Differentiation of prion protein glycoforms from naturally occurring sheep scrapie, sheep-passaged

scrapie strains (CH1641 and SSBP1), bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases and Romney and Cheviot breed sheep experimentally inoculated with BSE using two monoclonal antibodies. *Acta neuropathologica*, 104(3): 279–286. doi: 10.1007/s00401-002-0556-2.

1065. Stack, M., Focosi-Snyman, R., Cawthraw, S., Davis, L., Jenkins, R., Thorne, L., ... Terry, L. (2009). Two unusual bovine spongiform encephalopathy cases detected in Great Britain. *Zoonoses and public health*, 56(6–7): 376–383. doi: 10.1111/j.1863-2378.2008.01202.x.

1066. Stack, M., Jeffrey, M., Gubbins, S., Grimmer, S., González, L., Martin, S., ... Matthews, D. (2006). Monitoring for bovine spongiform encephalopathy in sheep in Great Britain, 1998–2004. *The Journal of general virology*, 87(7): 2099–2107. doi: 10.1099/vir.0.81254-0.

1067. Stahl, N., Baldwin, M.A., Burlingame, A.L., Prusiner, S.B. (1990) Identification of glycoinositol phospholipid linked and truncated forms of the scrapie prion protein. *Biochemistry*, 29(38): 8879–8884. doi: 10.1021/bi00490a001.

1068. Stahl, N., Baldwin, M.A., Hecker, R., Pan, K.M., Burlingame, A.L., Prusiner, S.B. (1992). Glycosylinositol phospholipid anchors of the scrapie and cellular prion proteins contain sialic acid. *Biochemistry*, 31(21): 5043–5053. doi: 10.1021/bi00136a600.

1069. Stahl, N., Baldwin, M.A., Teplov, D.B., Hood, L., Gibson, B.W., Burlingame, A.L., Prusiner, S.B. (1993) Structural studies of the scrapie prion protein using mass spectrometry and amino acid sequencing. *Biochemistry*, 32(8): 1991–2002. doi: 10.1021/bi00059a016.

1070. Stahl, N., Borchelt, D.R., Hsiao, K., Prusiner, S.B. (1987). Scrapie prion protein contains a phosphatidylinositol glycolipid. *Cell*, 51(2): 229–240. doi: 10.1016/0092-8674(87)90150-4.

1071. Stahl, N., Borchelt, D.R., Prusiner, S.B. (1990). Differential release of cellular and scrapie prion proteins from cellular membranes by phosphatidylinositol-specific phospholipase C. *Biochemistry*, 29(22): 5405–5412. doi: 10.1021/bi00474a028.

1072. Stanley B. Prusiner – Autobiography. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1997. NobelPrize.org.

1073. Stewart, R., Harris, D. (2003) Mutational analysis of topological determinants in prion protein (PrP) and measurement of transmembrane and cytosolic PrP during prion infection. *J Biol Chem.*, 278: 45960–45968. doi: 10.1074/jbc.M307833200.

1074. Stokstad, E. Norway plans to exterminate a large reindeer herd to stop a fatal infectious brain disease. *Science Magazine*, 3 August 2017.

1075. Stoyda, N.I., Zavalishin, I.A. (2012) Prionnyie bolezni. *Zhurnal nevrologii i psihatrii*, 9(2): 59–63.

1076. Strom, A., Yutzy, B., Kruij, C., Ooms, M., Schloot, N. C., Roden, M., ... Holznaegel, E. (2014). Foodborne transmission of bovine spongiform encephalopathy to non-human primates results in preclinical rapid-onset obesity. *PloS one*, 9(8): e104343. doi: 10.1371/journal.pone.0104343.
1077. Strumbo, B., Ronchi, S., Bolis, L.C., Simonic, T. (2001). Molecular cloning of the cDNA coding for *Xenopus laevis* prion protein. *FEBS letters*, 508(2): 170–174. doi: 10.1016/s0014-5793(01)03027-7.
1078. Suardi, S., Vimercati, C., Casalone, C., Gelmetti, D., Corona, C., Iulini, B., ... Tagliavini, F. (2012). Infectivity in skeletal muscle of cattle with atypical bovine spongiform encephalopathy. *PloS one*, 7(2): e31449. doi: 10.1371/journal.pone.0031449.
1079. Sunde, M., Blake, C. (1997). The structure of amyloid fibrils by electron microscopy and X-ray diffraction. *Advances in protein chemistry*, 50: 123–159. doi: 10.1016/s0065-3233(08)60320-4.
1080. Supattapone, S., Nguyen, H.O., Cohen, F.E., Prusiner, S.B., Scott, M.R. (1999). Elimination of prions by branched polyamines and implications for therapeutics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(25): 14529–14534. doi: 10.1073/pnas.96.25.14529.
1081. Surewicz, W.K., Apostol, M.I. (2011). Prion protein and its conformational conversion: a structural perspective. *Topics in current chemistry*, 305: 135–167. doi: 10.1007/128\_2011\_165.
1082. Sutton, J.M., Dickinson, J., Walker, J.T., Raven, N.D.H. (2006) Methods to minimize the risks of Creutzfeldt-Jakob disease transmission by surgical procedures: where to set the standard? *Clin Infect Dis*, 15;43(6): 757–764. doi: 10.1086/507030.
1083. Taberner, C., Polo, J.M., Sevillano, M.D., Muñoz, R., Berciano, J., Cabello, A., ... Claveria, L.E. (2000). Fatal familial insomnia: clinical, neuropathological, and genetic description of a Spanish family. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 68(6): 774–777. doi: 10.1136/jnnp.68.6.774.
1084. Tabouret, G., Lacroux, C., Lugan, S., Costes, P., Corbière, F., Weisbecker, J. L., Schelcher, F., Andréoletti, O. (2010). Relevance of oral experimental challenge with classical scrapie in sheep. *The Journal of general virology*, 91(8): 2139–2144. doi: 10.1099/vir.0.021311-0.
1085. Taema, M.M., Maddison, B.C., Thorne, L., Bishop, K., Owen, J., Hunter, N., ... Gough, K.C. (2012). Differentiating ovine BSE from CH1641 scrapie by serial protein misfolding cyclic amplification. *Molecular biotechnology*, 51(3): 233–239. doi: 10.1007/s12033-011-9460-0.
1086. Tagliavini, F., Prelli, F., Porro, M., Salmona, M., Bugiani, O., Frangione, B. (1992) A soluble form of prion protein in human cerebrospinal fluid: implications for prion-related encephalopathies. *Biochem Biophys Res Commun.*, 184(3): 1398–1404. doi: 10.1016/S0006-291X(05)80038-5.

1087. Takeuchi, A., Mohri, S., Kai, H., Tamaoka, A., Kobayashi, A., Mizusawa, H., ... Kitamoto, T. (2019). Two distinct prions in fatal familial insomnia and its sporadic form. *Brain communications*, 1(1): fcz045. doi: 10.1093/braincomms/fcz045.
1088. Tanaka, M., Chien, P., Naber, N., Cooke, R., Weissman, J.S. (2004). Conformational variations in an infectious protein determine prion strain differences. *Nature*, 428(6980): 323–328. doi: 10.1038/nature02392.
1089. Tanaka, M., Collins, S.R., Toyama, B.H., Weissman, J.S. (2006) The physical basis of how prion conformations determine strain phenotypes. *Nature*, 442(7102): 585–589. doi: 10.1038/nature04922.
1090. Tamgüney, G., Miller, M.W., Wolfe, L.L., Sirochman, T.M., Glidden, D.V., Palmer, C., ... Prusiner, S.B. (2008) Asymptomatic deer excrete infectious prions in faeces. *Nature*, 461(7263): 529–532. doi: 10.1038/nature08289.
1091. Tamgüney, G., Richt, J.A., Hamir, A.N., Greenlee, J.J., Miller, M.W., Wolfe, L.L., ... Prusiner, S.B. (2012). Salivary prions in sheep and deer. *Prion*, 6(1): 52–61. doi: 10.4161/pri.6.1.16984.
1092. Taraboulos, A., Raeber, A., Borchelt, D., Serban, D., Prusiner, S. (1992) Synthesis and trafficking of prion proteins in cultured cells. *Mol Biol Cell*, 3: 851–863. doi: 10.1091/mbc.3.8.851.
1093. Tateishi, J., Kitamoto, T., Hoque, M.Z., Furukawa, H. (1996). Experimental transmission of Creutzfeldt-Jakob disease and related diseases to rodents. *Neurology*, 46(2): 532–537. doi: 10.1212/wnl.46.2.532.
1094. Tateishi, J., Tashima, T., Kitamoto, T. (1991). Practical methods for chemical inactivation of Creutzfeldt-Jakob disease pathogen. *Microbiology and immunology*, 35(2): 163–166. doi: 10.1111/j.1348-0421.1991.tb01544.x
1095. Taylor, D.R., Parkin, E.T., Cocklin, S.L., Ault, J.R., Ashcroft, A.E., Turner, A.J., Hooper, N.M. (2009) Role of ADAMs in the ectodomain shedding and conformational conversion of the prion protein. *J Biol Chem.*, 284(34): 22590–22600. doi: 10.1074/jbc.M109.032599.
1096. Tee, B.L., Longoria Ibarrola, E.M., & Geschwind, M.D. (2018). Prion Diseases. *Neurologic clinics*, 36(4): 865–897. doi: 10.1016/j.ncl.2018.07.005.
1097. Telling, G.C., Scott, M., Hsiao, K.K., Foster, D., Yang, S.L., Torchia, M., ... Prusiner, S.B. (1994). Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(21): 9936–9940. doi: 10.1073/pnas.91.21.9936.
1098. Telling, G.C., Scott, M., Mastrianni, J., Gabizon, R., Torchia, M., Cohen, F.E., DeArmond, S.J., Prusiner, S.B. (1995). Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell*, 83(1): 79–90. doi: 10.1016/0092-8674(95)90236-8.

1099. Telling, G. (2015). Neurodegeneration: Evolved protection against human prions. *Nature*. 522(7557): 423–424. doi: 10.1038/nature14534.

1100. Telling, G.C., Parchi, P., DeArmond, S. J., Cortelli, P., Montagna, P., Gabizon, R., ... Prusiner, S.B. (1996). Evidence for the conformation of the pathologic isoform of the prion protein enciphering and propagating prion diversity. *Science (New York, N.Y.)*, 274(5295): 2079–2082. doi: 10.1126/science.274.5295.2079.

1101. Terry, L.A., Howells, L., Bishop, K., Baker, C.A., Everest, S., Thorne, L., Maddison, B. C., Gough, K.C. (2011). Detection of prions in the faeces of sheep naturally infected with classical scrapie. *Veterinary research*, 42(1): 65. boi: 10.1186/1297-9716-42-65.

1102. Terry, L.A., Howells, L., Hawthorn, J., Edwards, J. C., Moore, S. J., Bellworthy, S. J., ... Everest, S. J. (2009). Detection of PrPsc in blood from sheep infected with the scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *Journal of virology*, 83(23): 12552–12558. doi: 10.1128/JVI.00311-09.

1103. Terry, L.A., Jenkins, R., Thorne, L., Everest, S.J., Chaplin, M.J., Davis, L.A., Stack, M.J. (2007). First case of H-type bovine spongiform encephalopathy identified in Great Britain. *The Veterinary record*, 160(25): 873–874. doi: 10.1136/vr.160.25.873.

1104. Terry, L.A., Marsh, S., Ryder, S.J., Hawkins, S.A., Wells, G.A., & Spencer, Y.I. (2003). Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. *The Veterinary record*, 152(13): 387–392. doi: 10.1136/vr.152.13.387.

1105. Thackray, A.M., Hopkins, L., Lockey, R., Spiropoulos, J., Bujdoso, R. (2012). Propagation of ovine prions from "poor" transmitter scrapie isolates in ovine PrP transgenic mice. *Experimental and molecular pathology*, 92(1): 167–174. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.11.004.

1106. The Merck Veterinary Manual <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.html>

1107. The National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit [CJD Unit], United Kingdom. Variant CJD cases worldwide.. CJD Unit, U.K.; 2016 May. Available at: <http://www.cjd.ed.ac.uk/documents/worldfigs.pdf>. Accessed 28 Aug 2016.

1108. The Norwegian Veterinary Institute (2016, a). Detection of Chronic Wasting Disease (CWD) in two Norwegian moose. June 15, 2016.

1109. The Norwegian Veterinary Institute (2016, b). The first detection of Chronic Wasting Disease (CWD) in Europe, Norway.

1110. The European Parliament. *Regulation (EC) no 999/2001 of the European Parliament and of the Council as of 22 May 2001 laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. Official Journal of the European Communities L147/1-40.*<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32001R0999&from=EN> (2001).

1111. Theis, M., Si, K., Kandel, E.R. (2003). Two previously undescribed members of the mouse CPEB family of genes and their inducible expression in the principal cell layers of the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(16): 9602–9607. doi: 10.1073/pnas.1133424100.

1112. Thomas, J.G., Chenoweth, C.E., Sullivan, S.E. (2013). Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease via surgical instruments. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 20(9): 1207–1212. doi: 10.1016/j.jocn.2013.01.007.

1113. Thomsen, B.V., Schneider, D.A., O'Rourke, K.I., Gidlewski, T., McLane, J., Allen, R.W., ... Balachandran, A. (2012). Diagnostic accuracy of rectal mucosa biopsy testing for chronic wasting disease within white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) herds in North America: effects of age, sex, polymorphism at PRNP codon 96, and disease progression. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 24(5): 878–887. doi: 10.1177/1040638712453582.

1114. Thorne, L., Holder, T., Ramsay, A., Edwards, J., Taema, M.M., Windl, O., ... Terry, L. A. (2012). In vitro amplification of ovine prions from scrapie-infected sheep from Great Britain reveals distinct patterns of propagation. *BMC veterinary research*, 8: 223. doi: 10.1186/1746-6148-8-223.

1115. Thorne, L., Terry, L.A. (2008). In vitro amplification of PrPSc derived from the brain and blood of sheep infected with scrapie. *The Journal of general virology*, 89(12): 3177–3184. doi: 10.1099/vir.0.2008/004226-0.

1116. Thuring, C.M., Erkens, J.H., Jacobs, J.G., Bossers, A., Van Keulen, L.J., Garssen, G.J., ... Langeveld, J.P. (2004). Discrimination between scrapie and bovine spongiform encephalopathy in sheep by molecular size, immunoreactivity, and glycoprofile of prion protein. *Journal of clinical microbiology*, 42(3): 972–980. doi: 10.1128/JCM.42.3.972-980.2004.

1117. Tinuper, P., Montagna, P., Medori, R., Cortelli, P., Zucconi, M., Baruzzi, A., & Lugaresi, E. (1989). The thalamus participates in the regulation of the sleep-waking cycle. A clinico-pathological study in fatal familial thalamic degeneration. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 73(2): 117–123. doi: 10.1016/0013-4694(89)90190-9.

1118. Tixador, P., Herzog, L., Reine, F., Jaumain, E., Chapuis, J., Le Dur, A., Laude, H., Béringue, V. (2010). The physical relationship between infectivity and prion protein aggregates is strain-dependent. *PLoS pathogens*, 6(4): e1000859. doi: 10.1371/journal.ppat.1000859.

1119. Toribio-Díaz, E., Quintas, S., Peláez-Hidalgo, A., Villaceros-Álvarez, J., García Cobos, E., & García Di-Ruggiero, E. (2020). Fatal familial insomnia: A new case description with early response to immunotherapy. *Journal of*

*neuroimmunology*, 346: 577321. Advance online publication. doi: 10.1016/j.jneuroim.2020.577321.

1120. Torreira, E., Álamo, M.M.D., Fuentes-Perez, M.E., Fernández, C., Martín-Benito, J., Moreno-Herrero, F., Giraldo, R., Llorca, O. (2015) Amyloidogenesis of bacterial prionoid RepA-WHI recapitulates dimer to monomer transitions of RepA in DNA replication initiation. *Structure*, 23(1): 183–189. doi: 10.1016/j.str.2014.11.007.

1121. Torres, J.M., Andréoletti, O., Lacroux, C., Prieto, I., Lorenzo, P., Larska, M., Baron, T., Espinosa, J.C. (2011). Classical bovine spongiform encephalopathy by transmission of H-type prion in homologous prion protein context. *Emerging infectious diseases*, 17(9): 1636–1644. doi: 10.3201/eid1709.101403.

1122. Torres, J.M., Espinosa, J.C., Aguilar-Calvo, P., Herva, M. E., Relaño-Ginés, A., Villa-Díaz, A., ... Andreoletti, O. (2014). Elements modulating the prion species barrier and its passage consequences. *PloS one*, 9(3): e89722. doi: 10.1371/journal.pone.0089722.

1123. Torres, J.M., Marin-Moreno, A., Andreoletti, O., Espinosa, J.C., Beringue, V., Aguilar, P., & Fernandez-Borges, N. (2016). Prion Diseases in Animals and Zoonotic Potential. *Food safety (Tokyo, Japan)*, 4(4): 105–109. doi: 10.14252/foodsafetyfscj.2016021.

1124. Touzeau, S., Chase-Topping, M.E., Matthews, L., Lajous, D., Eychenne, F., Hunter, N., ... Woolhouse, M.E. (2006). Modelling the spread of scrapie in a sheep flock: evidence for increased transmission during lambing seasons. *Archives of virology*, 151(4): 735–751. doi: 10.1007/s00705-005-0666-y.

1125. Tranulis, M.A., Benestad, S.L., Baron, T., Kretzschmar, H. (2011). Atypical prion diseases in humans and animals. *Topics in current chemistry*, 305: 23–50. doi: 10.1007/128\_2011\_161.

1126. Tranulis, M.A. (2002). Influence of the prion protein gene, Prnp, on scrapie susceptibility in sheep. *APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 110(1): 33–43. doi: 10.1034/j.1600-0463.2002.100105.x.

1127. Tranulis, M.A., Osland, A., Bratberg, B., Ulvund, M.J. (1999). Prion protein gene polymorphisms in sheep with natural scrapie and healthy controls in Norway. *The Journal of general virology*, 80 (4): 1073–1077. doi: 10.1099/0022-1317-80-4-1073.

1128. Trevitt, C.R., Collinge, J. (2006). A systematic review of prion therapeutics in experimental models. *Brain : a journal of neurology*, 129(9): 2241–2265. doi: 10.1093/brain/awl150.

1129. Trieschmann, L., Navarrete Santos, A., Kaschig, K., Torkler, S., Maas, E., Schätzl, H., Böhm, G. (2005). Ultra-sensitive detection of prion protein fibrils by flow cytometry in blood from cattle affected with bovine



spongiform encephalopathy. *BMC biotechnology*, 5: 26. doi: 10.1186/1472-6750-5-26.

1130. True, H.L., Lindquist, S.L. (2000) A yeast prion provides a mechanism for genetic variation and phenotypic diversity. *Nature*, 407(6803): 477–483. doi: 10.1038/35035005.

1131. Tuo, W., Zhuang, D., Knowles, D.P., Cheevers, W.P., Sy, M.S., & O'Rourke, K.I. (2001). Prp-c and Prp-Sc at the fetal-maternal interface. *The Journal of biological chemistry*, 276(21): 18229–18234. doi: 10.1074/jbc.M008887200.

1132. Tyshenko M.G. (2007). Bovine spongiform encephalopathy and the safety of milk from Canadian dairy cattle. *The Veterinary record*, 160(7): 215–218. doi: 10.1136/vr.160.7.215.

1133. Tzaban, S., Friedlander, G., Schonberger, O., Horonchik, L., Yedidia, Y., Shaked, G., Gabizon, R., Taraboulos, A. (2002). Protease-sensitive scrapie prion protein in aggregates of heterogeneous sizes. *Biochemistry*, 41(42): 12868–12875. doi: 10.1021/bi025958g.

1134. Ugalde, C.L., Finkelstein, D.I., Lawson, V.A., Hill, A.F. (2016). Pathogenic mechanisms of prion protein, amyloid- $\beta$  and  $\alpha$ -synuclein misfolding: the prion concept and neurotoxicity of protein oligomers. *Journal of neurochemistry*, 139(2): 162–180. doi: 10.1111/jnc.13772.

1135. United Kingdom Department for Environment Food and Rural Affairs (DEFRA). General statistics on BSE cases. DEFRA; 2012. Available at: [http://vla.defra.gov.uk/science/docs/sci\\_tse\\_stats\\_gen.pdf](http://vla.defra.gov.uk/science/docs/sci_tse_stats_gen.pdf). \* Accessed 30 Apr 2012.

1136. U.K. Veterinary Laboratories Agency (VLA). Cattle TSE surveillance statistics. VLA; 5 Apr 2012. Available at: [http://vla.defra.gov.uk/science/sci\\_tse\\_stats\\_catt.htm](http://vla.defra.gov.uk/science/sci_tse_stats_catt.htm). \* Accessed 30 Apr 2012.

1137. U.K. Food Standards Agency. BSE and beef: new controls explained. Available at: [www.food.gov.uk/sites/default/files/multimedia/pdfs/publication/bse\\_booklet.pdf](http://www.food.gov.uk/sites/default/files/multimedia/pdfs/publication/bse_booklet.pdf). Accessed 29 Aug 2016.

1138. Ulvund M.J. (2006). Clinical Findings in Scrapie. In Prions in Humans and Animals, Eds. Hörnlimann, B., Riesner, D. and Kretzschmar. Berlin: *de Gruyter*, pp: 398–407.

1139. Ulvund, M.J. 2008. Ovine scrapie disease: do we have to live with it? *Small Rumin. Res.* 76: 131–140.

1140. United Kingdom Department for Environment Food and Rural Affairs. Bovine Spongiform Encephalopathy <https://www.gov.uk/guidance/bse>

1141. United Kingdom Department for Environment Food and Rural Affairs (DEFRA). Official Statistics. Exotic species and domestic cats: TSE surveillance statistics. DEFRA; 2016 Feb. Available at: <https://www.gov.uk/government/statistics/exotic-species-and-domestic-cats-tse-surveillance-statistics>. Accessed 5 Sept 2016.

1142. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) response plan summary. USDA APHIS; 1998 Oct. Available at: <http://permanent.access.gpo.gov/lps3025/bseum.pdf>.\* Accessed 15 Aug 2007.

1143. U.S. Department of Health and Human Services [USDHHS] Federal agencies take special precautions to keep “mad cow disease” out of the United States [online]. USDHHS; 2001 Aug. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/hhsbse2.html>.\* Accessed 15 Aug 2007.

1144. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Bovine spongiform encephalopathy (BSE): ongoing surveillance program. Available at: [https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/cattle-disease-information/sa\\_bse/ct\\_monthly\\_surv\\_test/](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/cattle-disease-information/sa_bse/ct_monthly_surv_test/). Accessed 29 Aug 2016.

1145. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. BSE surveillance in the United States. USDA APHIS; 2016 Jun. Available at: [https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/cattle-disease-information/sa\\_bse/ct\\_surv\\_in\\_usa](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/cattle-disease-information/sa_bse/ct_surv_in_usa). Accessed 29 Aug 2016.

1146. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. National scrapie eradication program. Available at: [https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/sheep-and-goat-health/national-scrapie-eradication-program/ct\\_scrapie\\_home](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/sheep-and-goat-health/national-scrapie-eradication-program/ct_scrapie_home). Accessed 30 Aug 2016.

1147. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Scrapie program standards volume 2: scrapie-free flock certification program. USDA APHIS; 2016 May. Available at: [https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/scrapie/downloads/standards\\_current.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie/downloads/standards_current.pdf). Accessed 28 Aug. 2016.

1148. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Centers for Epidemiology and Animal Health. Highlights of phase II: Scrapie: Ovine slaughter surveillance study 2002–2003 [online]. USDA APHIS; 2004 March. Available at: [http://nahms.aphis.usda.gov/sheep/SOSS\\_highlights.pdf](http://nahms.aphis.usda.gov/sheep/SOSS_highlights.pdf).\* Accessed 5 Apr 2007.

1149. U.S. Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Centers for Epidemiology and Animal Health. National scrapie surveillance plan. USDA APHIS; 2010 Sept. Available at: [https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/scrapie/downloads/national\\_scrapie\\_surv\\_plan.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/scrapie/downloads/national_scrapie_surv_plan.pdf). Accessed 30 Aug 2016

1150. U.S. Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service [USDA APHIS]. Transmissible mink encephalopathy. USDA APHIS; 2002 Feb. Available at: [http://www.aphis.usda.gov/lpa/pubs/fsheet\\_faq\\_notice/fs\\_ahtme.html](http://www.aphis.usda.gov/lpa/pubs/fsheet_faq_notice/fs_ahtme.html).\*. Accessed 5 Oct 2008.

1151. U.S. Food and Drug Administration [FDA]. Bovine spongiform encephalopathy. FDA; 2016 Mar. Available at: <http://www.fda.gov/animalveterinary/guidancecompliancenc/enforcement/complianceenforcement/bovinespongiformencephalopathy/default.htm>. Accessed 30 Aug 2016.

1152. United States Department of Agriculture (USDA), Animal and Plant Health Inspection Service. Bovine Spongiform Encephalopathy <http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navtype=SU&navid=BSE>

1153. United States Food and Drug Administration. Bovine Spongiform Encephalopathy/<http://www.fda.gov/animalveterinary/guidancecompliancenc/enforcement/complianceenforcement/bovinespongiformencephalopathy/default.htm>

1154. Uptain, S.M., Sawicki, G.J., Caughey, B., Lindquist, S. (2001). Strains of [PSI(+)] are distinguished by their efficiencies of prion-mediated conformational conversion. *The EMBO journal*, 20(22): 6236–6245. doi: 10.1093/emboj/20.22.6236.

1155. Uttley, L., Carroll, C., Wong, R., Hilton, D.A., Stevenson, M. (2020) Creutzfeldt-Jakob disease: a systematic review of global incidence, prevalence, infectivity, and incubation. *Lancet Infect Dis.*, 20(1):e2-e10. doi: 10.1016/S1473-3099(19)30615-2.

1156. Vaccari, G., Bari, M., Morelli, L., Nonno, R., Chiappini, B., Antonucci, G., ... Agrimi, U. (2006). Identification of an allelic variant of the goat PrP gene associated with resistance to scrapie. *The Journal of general virology*, 87(5): 1395–1402. doi: 10.1099/vir.0.81485-0.

1157. Vaccari, G., Panagiotidis, C.H., Acin, C., Peletto, S., Barillet, F., Acutis, P., ... Goldmann, W. (2009). State-of-the-art review of goat TSE in the European Union, with special emphasis on PRNP genetics and epidemiology. *Veterinary research*, 40(5): 48. doi: 10.1051/vetres/2009031.

1158. Vadrot, C., Darbord, J. C. (2006). Quantitative evaluation of prion inactivation comparing steam sterilization and chemical sterilants: proposed method for test standardization. *The Journal of hospital infection*, 64(2): 143–148. doi: 10.1016/j.jhin.2006.06.007.

1159. Valleron, A.J., Boelle, P.Y., Will, R., Cesbron, J.Y. (2001) Estimation of epidemic size and incubation time based on age characteristics of vCJD in the United Kingdom. *Science*, 294(5547): 1726–1728. doi: 10.1126/science.1066838.

1160. Vamvakas E.C. (2011). Universal white blood cell reduction in Europe: has transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease been prevented? *Transfusion medicine reviews*, 25(2): 133–144. doi: 10.1016/j.tmr.2010.11.005.

1161. van Keulen, L.J., Bossers, A., & van Zijderveld, F. (2008). TSE pathogenesis in cattle and sheep. *Veterinary research*, 39(4): 24. doi: 10.1051/vetres:2007061.

1162. van Keulen, L.J., Vromans, M.E., & van Zijderveld, F.G. (2002). Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. *APMIS : acta*

*pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 110(1): 23–32. doi: 10.1034/j.1600-0463.2002.100104.x.

1163. Vascellari, M., Nonno, R., Mutinelli, F., Bigolaro, M., Di Bari, M.A., Melchiotti, E., ... Agrimi, U. (2007). PrPSc in salivary glands of scrapie-affected sheep. *Journal of virology*, 81(9): 4872–4876. doi: 10.1128/JVI.02148-06.

1164. Vassallo, N., Herms, J., Behrens, C., Krebs, B., Saeki, K., Onodera, T., Windl, O., Kretzschmar, H.A. (2005) Activation of phosphatidylinositol 3-kinase by cellular prion protein and its role in cell survival. *Biochem Biophys Res Commun.*, 332(1): 75–82. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.04.099.

1165. Verbytskyi, P.I. (2005) Hubchastopodibna entsefalopatiia velykoi rohatoi khudoby ta inshi prionni infektsii: monohrafiia. *Kyev: Vetinform*, 240 s.

1166. VerCauteren, K.C., Pilon, J.L., Nash, P.B., Phillips, G.E., Fischer, J.W. (2012). Prion remains infectious after passage through digestive system of American crows (*Corvus brachyrhynchos*). *PLoS one*, 7(10): e45774. doi: 10.1371/journal.pone.0045774.

1167. Verma, M., Vats, A., Taneja, V. (2015). Toxic species in amyloid disorders: Oligomers or mature fibrils. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 18(2): 138–145. doi: 10.4103/0972-2327.144284.

1168. Vey, M., Pilkuhn, S., Wille, S., Nixon, R., DeArmond, S., Smart, E., Taraboulos, A., Prusiner, S. (1996) Subcellular colocalization of the cellular and scrapie prion proteins in caveolae-like membranous domains. *PNAS*, 93(25):14945–14949. doi: 10.1073/pnas.93.25.14945.

1169. Vidal, E., Fernández-Borges, N., Pintado, B., Ordóñez, M., Márquez, M., Fondevila, D., ... Castilla, J. (2013). Bovine spongiform encephalopathy induces misfolding of alleged prion-resistant species cellular prion protein without altering its pathobiological features. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 33(18): 7778–7786. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0244-13.2013.

1170. Vidal, E., Fernández-Borges, N., Pintado, B., Eraña, H., Ordóñez, M., Márquez, M., ... Castilla, J. (2015). Transgenic Mouse Bioassay: Evidence That Rabbits Are Susceptible to a Variety of Prion Isolates. *PLoS pathogens*, 11(8): e1004977. doi: 10.1371/journal.ppat.1004977.

1171. Vincent, B., Paitel, E., Frobert, Y., Lehmann, S., Grassi, J., Checler, F. (2000) Phorbol ester-regulated cleavage of normal prion protein in HEK293 human cells and murine neurons. *J Biol Chem.*, 275: 35612–35616. doi:10.1074/jbc.M004628200.

1172. Vitali, P., Maccagnano, E., Caverzasi, E., Henry, R.G., Haman, A., Torres-Chae, C., ... Geschwind, M.D. (2011). Diffusion-weighted MRI hyperintensity patterns differentiate CJD from other rapid dementias. *Neurology*, 76(20): 1711–1719. doi: 10.1212/WNL.0b013e31821a4439.

1173. Volkov, K.V., Aksenova, A.Y., Soom, M.J., Osipov, K.V., Svitin, A.V., Kurischko, C., ... Mironova, L.N. (2002) Novel non-Mendelian

determinant involved in the control of translation accuracy in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 160(1): 25–36.

1174. Waddell, L., Greig, J., Mascarenhas, M., Otten, A., Corrin, T., Hierlihy, K. (2018). Current evidence on the transmissibility of chronic wasting disease prions to humans-A systematic review. *Transboundary and emerging diseases*, 65(1): 37–49. doi: 10.1111/tbed.12612.

1175. Wadsworth, J.D., & Collinge, J. (2011). Molecular pathology of human prion disease. *Acta neuropathologica*, 121(1): 69–77. doi: 10.1007/s00401-010-0735-5.

1176. Wadsworth, J.D.F., Asante, E.A., Collinge, J. (2010) Review: contribution of transgenic models to understanding human prion disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 36(7): 576–597. doi: 10.1111/j.1365-2990.2010.01129.x.

1177. Wadsworth, J.D., Joiner, S., Linehan, J.M., Balkema-Buschmann, A., Spiropoulos, J., Simmons, M.M., ... Collinge, J. (2013). Atypical scrapie prions from sheep and lack of disease in transgenic mice overexpressing human prion protein. *Emerging infectious diseases*, 19(11): 1731–1739. doi: 10.3201/eid1911.121341.

1178. Wadsworth, J.D., Joiner, S., Linehan, J.M., Desbruslais, M., Fox, K., Cooper, S., ... Collinge, J. (2008). Kuru prions and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease prions have equivalent transmission properties in transgenic and wild-type mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(10): 3885–3890. doi: 10.1073/pnas.0800190105.

1179. Walter, E.D., Stevens, D.J., Spvacek, A.R., Visconte, M.P., Dei Rossi, A., Millhauser, G.L. (2009) Copper binding extrinsic to the octarepeat region in the prion protein. *Curr Protein Pept Sci.*, 10(5): 529–535. doi: 10.2174/138920309789352056.

1180. Walter, E.D., Stevens, D.J., Visconte, M.P., Millhauser, G.L. (2007) The prion protein is a combined zinc and copper binding protein: Zn<sup>2+</sup> alters the distribution of Cu<sup>2+</sup> coordination modes. *J Am Chem Soc.*, 129(50): 15440–15441. doi: org/10.1021/ja077146j.

1181. Wang, F., Wang, X., Yuan, C.G., Ma, J. (2010). Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5969): 1132–1135. doi: 10.1126/science.1183748.

1182. Watson, N., Brandel, J.P., Green, A., Hermann, P., Ladogana, A., Lindsay, T., ... Pal, S. (2021). The importance of ongoing international surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease. *Nature reviews. Neurology*, 17(6): 362–379. doi: 10.1038/s41582-021-00488-7.

1183. Watt, N., Taylor, D., Gillott, A., Thomas, D., Perera, W., Hooper, N. (2005) Reactive oxygen species-mediated beta-cleavage of the prion protein in the cellular response to oxidative stress. *J Biol Chem.*, 280: 35914–35921. doi: 10.1074/jbc.M507327200.

1184. Watts, J.C., Balachandran, A., Westaway, D. (2006). The expanding universe of prion diseases. *PLoS pathogens*, 2(3): e26. doi: 10.1371/journal.ppat.0020026.
1185. Watts, J.C., Giles, K., Stöhr, J., Oehler, A., Bhardwaj, S., Grillo, S.K., ... Prusiner, S.B. (2012). Spontaneous generation of rapidly transmissible prions in transgenic mice expressing wild-type bank vole prion protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(9): 3498–3503. doi: 10.1073/pnas.1121556109.
1186. Watts, J.C., Giles, K., Patel, S., Oehler, A., DeArmond, S.J., & Prusiner, S.B. (2014). Evidence that bank vole PrP is a universal acceptor for prions. *PLoS pathogens*, 10(4): e1003990. doi: 10.1371/journal.ppat.1003990.
1187. Watts, J.C., Giles, K., Saltzberg, D.J., Dugger, B.N., Patel, S., Oehler, A., ... Prusiner, S. B. (2016). Guinea Pig Prion Protein Supports Rapid Propagation of Bovine Spongiform Encephalopathy and Variant Creutzfeldt-Jakob Disease Prions. *Journal of virology*, 90(21): 9558–9569. doi: 10.1128/JVI.01106-16.
1188. Watts, J.C., Prusiner, S.B. (2018).  $\beta$ -Amyloid Prions and the Pathobiology of Alzheimer's Disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 8(5): a023507. doi: 10.1101/cshperspect.a023507.
1189. Watts, T. CWD leads to new regulations for taxidermists. *Oakland Press News*, 28 May 2009.
1190. Webb, T.E., Poulter, M., Beck, J., Uphill, J., Adamson, G., Campbell, T., ... Mead, S. (2008). Phenotypic heterogeneity and genetic modification of P102L inherited prion disease in an international series. *Brain : a journal of neurology*, 131(10), 2632–2646. doi: 10.1093/brain/awn202.
1191. Webb, P.R., Powell, L., Denyer, M., Marsh, S., Weaver, C., Simmons, M. M., ... Spencer, Y.I. (2009). A retrospective immunohistochemical study reveals atypical scrapie has existed in the United Kingdom since at least 1987. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(6): 826–829. doi: 10.1177/104063870902100609.
1192. Wegrzyn, R.D., Bapat, K., Newnam, G.P., Zink, A.D., Chernoff, Y.O. (2001). Mechanism of prion loss after Hsp104 inactivation in yeast. *Molecular and cellular biology*, 21(14): 4656–4669. doi: 10.1128/MCB.21.14.4656-4669.2001.
1193. Weissmann, C., Enari, M., Klöhn, P-C., Rossi, D., Flechsig, E. (2002) Transmission of prions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(4): 16378–16383. doi: 10.1073/pnas.172403799.
1194. Weissmann, C., Li, J., Mahal, S.P., Browning, S. (2011). Prions on the move. *EMBO reports*, 12(11): 1109–1117. doi: 10.1038/embor.2011.192.
1195. Weissmann C. (2012). Mutation and selection of prions. *PLoS pathogens*, 8(3): e1002582. doi: 10.1371/journal.ppat.1002582.

1196. Welker, E., Raymond, L.D., Scheraga, H.A., Caughey, B. (2002) Intramolecular versus intermolecular disulfide bonds in prion proteins. *J Biol Chem.*, 277(36): 33477–33481. doi: 10.1074/jbc.M204273200.
1197. Wells, G., Hawkins, S., Austin, A.R., Ryder, S.J., Done, S.H., Green, R.B., ... Kimberlin, R.H. (2003). Studies of the transmissibility of the agent of bovine spongiform encephalopathy to pigs. *The Journal of general virology*, 84(Pt 4), 1021–1031. doi: 10.1099/vir.0.18788-0.
1198. Wells, G.A.H., Wilesmith, J.W.: Bovine spongiform encephalopathy and related diseases. In: Prion Biology and Diseases, ed. Prusiner S., 2nd ed., pp. 595–628. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, NY, 2004.
1199. Wemheuer, W.M., Benestad, S.L., Wrede, A., Wemheuer, W.E., Brenig, B., Bratberg, B., & Schulz-Schaeffer, W.J. (2011). PrPSc spreading patterns in the brain of sheep linked to different prion types. *Veterinary research*, 42(1): 32. doi: 10.1186/1297-9716-42-32.
1200. White, A.R., Enever, P., Tayebi, M., Mushens, R., Linehan, J., Brandner, S., ... Hawke, S. (2003). Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. *Nature*, 422(6927): 80–83. doi: 10.1038/nature01457.
1201. White, M.D., Farmer, M., Mirabile, I., Brandner, S., Collinge, J., Mallucci, G.R. (2008). Single treatment with RNAi against prion protein rescues early neuronal dysfunction and prolongs survival in mice with prion disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(29): 10238–10243. doi: 10.1073/pnas.0802759105.
1202. White, S.N., Reynolds, J.O., Waldron, D.F., Schneider, D.A., O'Rourke, K.I. (2012). Extended scrapie incubation time in goats singly heterozygous for PRNP S146 or K222. *Gene*, 501(1): 49–51. doi: 10.1016/j.gene.2012.03.068.
1203. Wilesmith, J.W., Ryan, J.B., Hueston, W.D., Hoinville, L.J. (1992). Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological features 1985 to 1990. *The Veterinary record*, 130(5): 90–94. doi: 10.1136/vr.130.5.90.
1204. Wilesmith, J.W., Wells, G.A., Ryan, J.B., Gavier-Widen, D., Simmons, M.M. (1997). A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *The Veterinary record*, 141(10): 239–243. doi: 10.1136/vr.141.10.239.
1205. Williams, E.S., Young, S. (1992). Spongiform encephalopathies in Cervidae. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 11(2): 551–567. doi: 10.20506/rst.11.2.611.
1206. Williams E.S. (2005). Chronic wasting disease. *Veterinary pathology*, 42(5): 530–549. doi: 10.1354/vp.42-5-530.
1207. Will, R.G. (2003) Acquired prion disease: iatrogenic CJD, variant CJD, kuru. *Br Med Bull*, 66: 255–265. doi: 10.1093/bmb/66.1.255.

1208. Will, R.G., Alpers, M.P., Dormont, D., Schonberger, L.B., Tateishi, J. (1999) Infectious and sporadic prion diseases. in Prion Biology and Diseases. S.B. Prusiner, Editor. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor; P. 465–507.

1209. Will, R.G., Campbell, M.J., Moss, T.H., Bell, J.E., & Ironside, J.W. (1998). FFI cases from the United Kingdom. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)*, 8(3): 562–563. doi: 10.1111/j.1750-3639.1998.tb00182.x.

1210. Will, R.G., & Ironside, J.W. (2017). Sporadic and Infectious Human Prion Diseases. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(1): a024364. doi. 10.1101/cshperspect.a024364.

1211. Will, R.G., Ironside, J.W., Zeidler, M., Cousens, S.N., Estibeiro, K., Alperovitch, A., ... Smith, P. G. (1996). A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet (London, England)*, 347(9006): 921–925. doi: 10.1016/s0140-6736(96)91412-9.

1212. Will R.G. (2002). Variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 62(3): 167–173.

1213. Wilham, J.M., Orrú, C.D., Bessen, R.A., Atarashi, R., Sano, K., Race, B., ... Caughey, B. (2010). Rapid end-point quantitation of prion seeding activity with sensitivity comparable to bioassays. *PLoS pathogens*, 6(12): e1001217. doi: 10.1371/journal.ppat.1001217.

1214. Winter, S.N., Escobar, L.E. (2020). Chronic wasting disease modeling: an overview. *Journal of wildlife diseases*, 56(4): 741–758. doi: 10.7589/2019-08-213.

1215. World Health Organization. Bovine Spongiform Encephalopathy <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/official-disease-status/bse/list-of-bse-risk-status/>

1216. World Organization for Animal Health. Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Bovinespongiform-encephalopathy/> (2018).

1217. World Health Organization [WHO]. Bovine spongiform encephalopathy [online].WHO;2002Nov. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs113/en/>. \* Accessed 16 Aug 2007.

1218. World Organization for Animal Health. *Camel prion disease: a possible emerging disease in dromedary camel populations?* <https://oiebulletin.com/wpcontent/uploads/2019/12/OIE-News-December-2019-Camel-prion-disease.pdf> (2019).

1219. World Organization for Animal Health [OIE]. Manual of diagnostic tests and vaccines [online]. Paris: OIE; 2016. Scrapie. Available at: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.07.12\\_SCRAPIE.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.12_SCRAPIE.pdf). Accessed 20 Aug 2016.



1220. World Organization for Animal Health [OIE]. Manual of diagnostic tests and vaccines [online]. Paris: OIE; 2016. Bovine spongiform encephalopathy. Available at: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.04.05\\_BSE.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.05_BSE.pdf). Accessed 26 Aug 2016.

1221. World Organization for Animal Health. *Number of cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) reported in the United Kingdom* <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-cases-in-the-united-kingdom/> (2020).

1222. World Organization for Animal Health [OIE]. Number of reported cases of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in farmed cattle worldwide (excluding the United Kingdom). Available at: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/bse-specific-data/number-of-reported-cases-worldwide-excluding-the-united-kingdom/>. Accessed 29 Aug 2016.

1223. World Organization for Animal Health [OIE]. Terrestrial animal health code [online]. Paris: OIE; 2016. Bovine spongiform encephalopathy. Available at: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre\\_bse.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmlfile=chapitre_bse.htm). Accessed 29 Aug 2016.

1224. World Organization for Animal Health [OIE]. World animal health information database (WAHIS) interface. Bovine spongiform encephalopathy. OIE; 2015. Available at [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home). Accessed 28 Aug 2016.

1225. World Organization for Animal Health [OIE]. World animal health information database (WAHIS) interface. Scrapie. OIE; 2015. Available at: [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home). Accessed 28 Aug 2016.

1226. World Organization for Animal Health (OIE) <http://www.oie.int>

1227. Wulf, M.A., Senatore, A., Aguzzi, A. (2017). The biological function of the cellular prion protein: an update. *BMC biology*, 15(1): 34. doi: 10.1186/s12915-017-0375-5.

1228. Wyatt, S.J., Pearson, G.R., Gruffydd-Jones, T.J. (1993) Feline spongiform encephalopathy. *Feline Pract*, 21: 7–9.

1229. Wyatt, J.M., Pearson, G.R., Smerdon, T.N., Gruffydd-Jones, T.J., Wells, G. A., & Wilesmith, J.W. (1991). Naturally occurring scrapie-like spongiform encephalopathy in five domestic cats. *The Veterinary record*, 129(11): 233–236. doi: 10.1136/vr.129.11.233.

1230. Xu, S., Reuter, T., Gilroyed, B.H., Mitchell, G.B., Price, L.M., Dudas, S., ... McAllister, T.A. (2014). Biodegradation of prions in compost. *Environmental science & technology*, 48(12): 6909–6918. doi: 10.1021/es500916v.

1231. Yahno, N.N., Shtulman, D.R., Zhuchenko, T.D. (1997) Bolezn Kreyttsfeldta-Yakoba. *Nevrolog. zhurn.*, (5): 31–37.

1232. Yamada, M., Tomimitsu, H., Yokota, T., Tomi, H., Sunohara, N., Mukoyama, M., ... Mizusawa, H. (1999). Involvement of the spinal posterior horn in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (PrP P102L). *Neurology*, 52(2): 260–265. doi: 10.1212/wnl.52.2.260.

1233. Yatusевич, A.I., Prudnikov, V.S., Karasev, N.F., Nikolaenko, M.F. (2008) Zaraznyie bolezni pushnyih zverey. Monografiya. Vitebsk: UO VGAVM: 110.

1234. Yokoyama, T., Okada, H., Murayama, Y., Masujin, K., Iwamaru, Y., Mohri, S. (2011). Examination of the offspring of a Japanese cow affected with L-type bovine spongiform encephalopathy. *The Journal of veterinary medical science*, 73(1): 121–123. doi: 10.1292/jvms.10-0237.

1235. Young, S., Slocombe, R.F. (2003). Prion-associated spongiform encephalopathy in an imported Asiatic golden cat (*Catopuma temmincki*). *Australian veterinary journal*, 81(5): 295–296. doi: 10.1111/j.1751-0813.2003.tb12579.x.

1236. Yuan, A.H., Hochschild, A. (2017). A bacterial global regulator forms a prion. *Science*. 355(6321): 198–201. doi: 10.1126/science.aai7776.

1237. Zabel, M. D., & Avery, A. C. (2015). Prions—not your immunologist’s pathogen. *PLoS pathogens*, 11(2): e1004624. doi: 10.1371/journal.ppat.1004624.

1238. Zabel, M., Ortega, A. (2017) The Ecology of Prions. *Microbiol Mol Biol Rev*, 81(3): e00001-17. doi: 10.1128/MMBR.00001-17.

1239. Zanusso, G., Nardelli, E., Rosati, A., Fabrizi, G., Ferrari, S., Carteri, A., ... Monaco, S. (1998). Simultaneous occurrence of spongiform encephalopathy in a man and his cat in Italy. *Lancet (London, England)*, 352(9134): 1116–1117. doi: 10.1016/S0140-6736(05)79756-7.

1240. Zarranz, J.J., Digon, A., Atarés, B., Rodríguez-Martínez, A. B., Arce, A., Carrera, N., ... de Pancorbo, M. M. (2005). Phenotypic variability in familial prion diseases due to the D178N mutation. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 76(11): 1491–1496. doi: 10.1136/jnnp.2004.056606.

1241. Zavadenko, N.N., Khondkaryan, G.S., Bembeeva, R.T., Kholin, A.A., Saverskaya, E.N. (2018). Prionnye zabolevaniia cheloveka: sovremennye aspekty [Human prion diseases: current issues]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, 118(6): 88–95. doi: 10.17116/jnevro20181186188.

1242. Zavalishin, I.A., Gulevskaya, T.S., Piradov, M.A., Dzhibladze, D.N., Popova, L.M., Chaykovskaya, R.P., ... Shitikova, I.E. (2000) Patologiya golovnogo mozga pri bolezni Kreyttfeldta-Yakoba. *Zhurn. nevrol. i psikiatrii im. S. S. Korsakova*, 8: 10–15.

1243. Zavalishin, I.A. (2017) Hronicheskie neyroinfektsii / pod red. I. A. Zavalishina, N. N. Spirina, A. N. Boyko, S. S. Nikitina. *M.: GEOTAR-Media*, 592 s.

1244. Zeidler, M., Stewart, G.E., Barraclough, C.R., Bateman, D.E., Bates, D., Burn, D. J., ... Will, R. G. (1997). New variant Creutzfeldt-Jakob disease:

neurological features and diagnostic tests. *Lancet (London, England)*, 350(9082): 903–907. doi: 10.1016/s0140-6736(97)07472-2.

1245. Zeng, F., Watt, N.T., Walmsley, A.R., Hooper, N.M. (2003). Tethering the N-terminus of the prion protein compromises the cellular response to oxidative stress. *Journal of neurochemistry*, 84(3): 480–490. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01529.x.

1246. Zerr, I., Kallenberg, K., Summers, D.M., Romero, C., Taratuto, A., Heinemann, U., ... Sanchez-Juan, P. (2009). Updated clinical diagnostic criteria for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain : a journal of neurology*, 132(10): 2659–2668. doi: 10.1093/brain/awp191.

1247. Zerr, I., Polyakova, T.A. (2015). Bolezn' Kreıtsfeld'ta-Iakoba: kliniko-diagnosticheskie aspekty [Creutzfeldt-Jakob disease: clinical and diagnostic aspects]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, 115(6/2): 9–16. doi: 10.17116/jnevro2015115629-16.

1248. Zhao, M.M., Feng, L.S., Hou, S., Shen, P.P., Cui, L., & Feng, J.C. (2019). Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease: A case report. *World journal of clinical cases*, 7(3): 389–395. doi: 10.12998/wjcc.v7.i3.389.

1249. Zhou, P., Derkatch, I.L., Uptain, S.M., Patino, M.M., Lindquist, S., Liebman, S.W. (1999). The yeast non-Mendelian factor [ETA+] is a variant of [PSI+], a prion-like form of release factor eRF3. *The EMBO journal*, 18(5), 1182–1191. doi: 10.1093/emboj/18.5.1182.

1250. Zinoveva, O.E., Isaev, R.I., Nodel, M.R., Zaharov, V.V., Soloha, O.A., Hromenko, N.P., Perepelova, E.M., Yahno, N.N. (2016) Bolezn Kreyttsfeldta-Yakoba. *Nevrologicheskiy zhurnal*, (21)4: 233–240. doi: 10.18821/1560-9545-2016-21-4-232-240.

1251. Zou, W.Q., Puoti, G., Xiao, X., Yuan, J., Qing, L., Cali, I., ... Gambetti, P. (2010). Variably protease-sensitive prionopathy: a new sporadic disease of the prion protein. *Annals of neurology*, 68(2); 162–172. doi: 10.1002/ana.22094.

1252. Zuev, V.A., Kalnov, S.L., Kulikova, N.Yu., Grebennikova, T.V. (2020) Prion diseases and the biosecurity problems. *Problems of Virology*, 65(2): 71–76. (In Russ.) <https://doi.org/10.36233/0507-4088-2020-65-2-71-76>.

1253. Zuev, V.A., Zavalishin, I.A., Royhel, V.M. (1999) Prionnyie bolezni cheloveka i zhivotnyih. Rukovodstvo dlya vrachey. *M: Meditsina*, 192 p.

## ДОДАТКИ

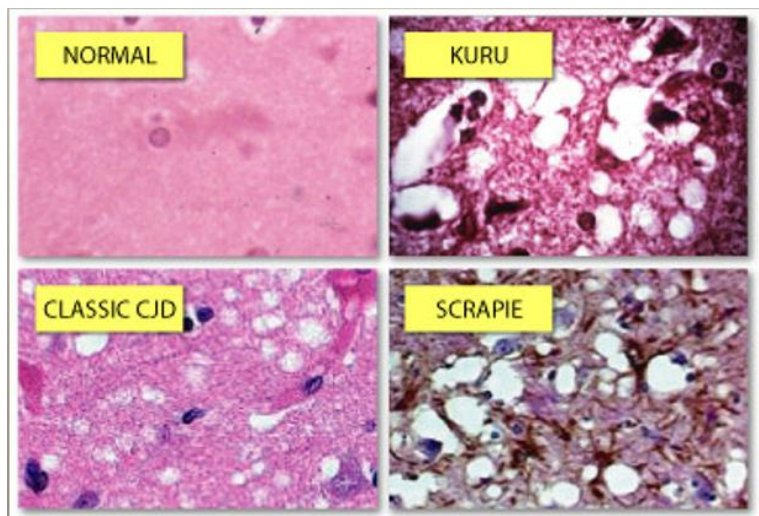


Рис 1. Вакуолізація мозку (*status spongiosus*) за ТГЕ (Куру, класична форма хвороби Крейцфельда-Якоба, Скрепі)  
(Jackson G.S., Clarke A.R., 2000).

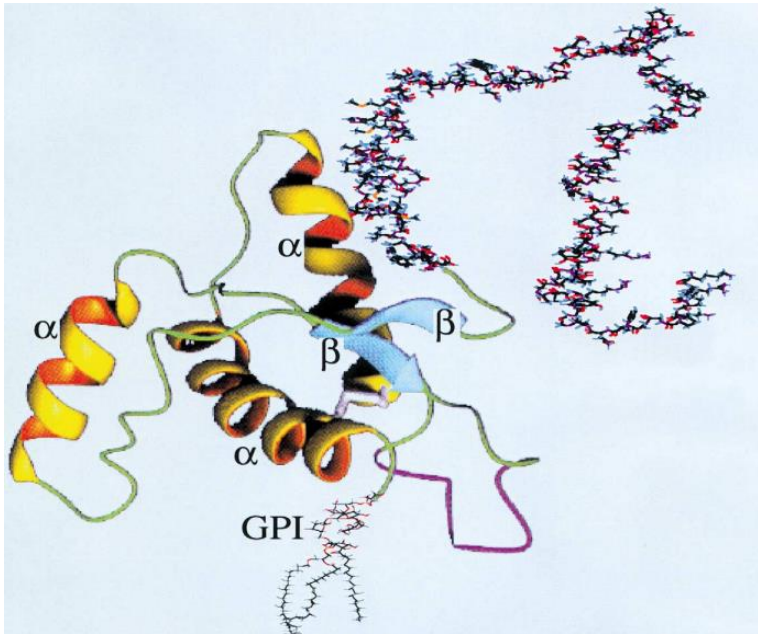
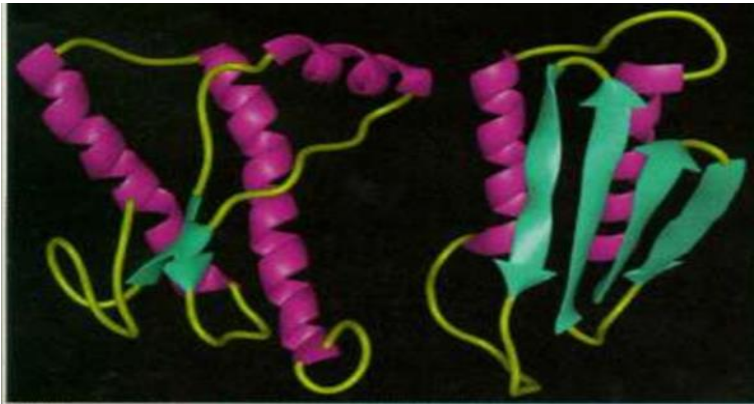


Рис. 2. Третинна (тривимірна) структура клітинного *PrP*  
(Riek R. et al., 1996).



• Cellular isoform	• Scrapie isoform
• 43% $\alpha$ -helical	• 34% $\alpha$ -helical
• <5% $\beta$ -sheet	• 43% $\beta$ -sheet
• Cell surface	• Intra/extra-cellular
• Detergent soluble	• Insoluble
• PK-sensitive	• PK-resistant

Рис 3. Третинна структура фізіологічного й патологічного пріону.  
 Тримірна PrPC (зліва) і PrPSc (з правого боку).  
 Фіолетовим кольором позначено  $\alpha$ -спіралі, зелені –  $\beta$ -листи  
 (Jackson G.S., Clarke A.R., 2000).

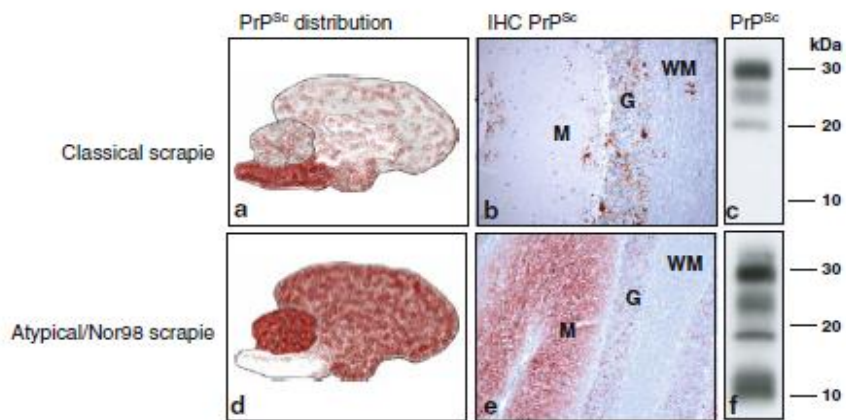


Рис. 4. Порівняння класичної форми скрепі й атипової/*Nor98* форми скрепі щодо загального розподілу  $PrP^{Sc}$  в мозку (*a, d*), імуногістохімічне дослідження  $PrP^{Sc}$  в мозочку (*b, e*), смуги  $PrP^{Sc}$  показані в *western blot* (*c, f*) (Tranulis M.A. et al., 2011).

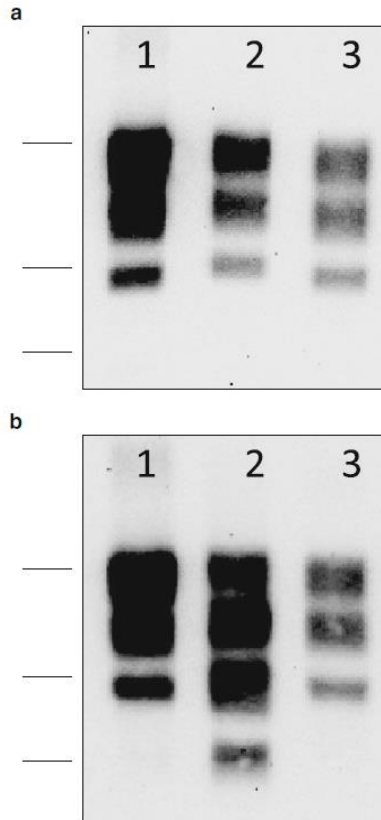


Рис. 5. *Western blot* аналіз  $PrP^{Sc}$  класичного *BSE* (смуга 1), *H*-типу (смуга 2), *L*-типу (смуга 3). (а) Виявлення *mAb Sha31* (епітопи *aa* 156–163). (б) Виявлення *mAb SAF84* (епітопи *aa* 175–180). В (б) додатковій смугі приблизно 14 kDa виявляється і чітко виражена пропорція  $PrP^{Sc}$  смуг, які були виявлені у *H*-типу *BSE* (лінія 2), розміри маркерів в кілодальтонах показані зліва (29,0, 20,1 і 14,3) (Tranulis M.A. et al., 2011).



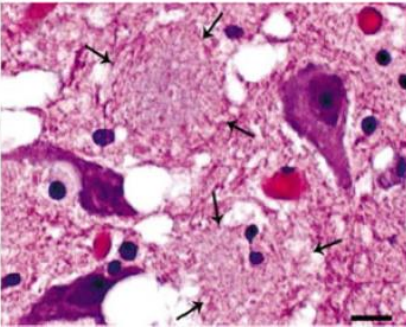
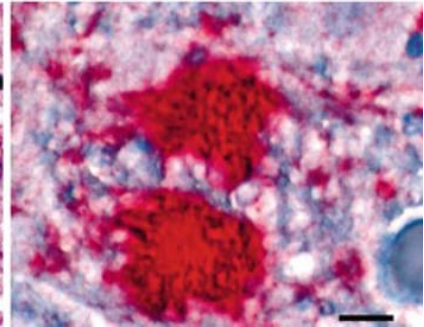
**a****b****c**

Рис. 6. Клінічні ознаки й патологія мозку за хронічної виснажливої хвороби оленів. Верхній малюнок показує 3-річну самку чорнохвостого оленя з клінічними ознаками хронічної виснажливої хвороби, яка характеризується гіперсаливацією, схудненням та депресією. На нижніх зображеннях показані амیلійні бляшки в таламусі за CDW. Ліворуч зображена фіксована формаліном тканина. Ураження окреслені стрілками. Правий знімок показує імуногістохімічне (IHC) фарбування таких амیلійних бляшок.

Використано фото Beth Williams з Університету Вайомінга  
(Gilch S. et al., 2011).

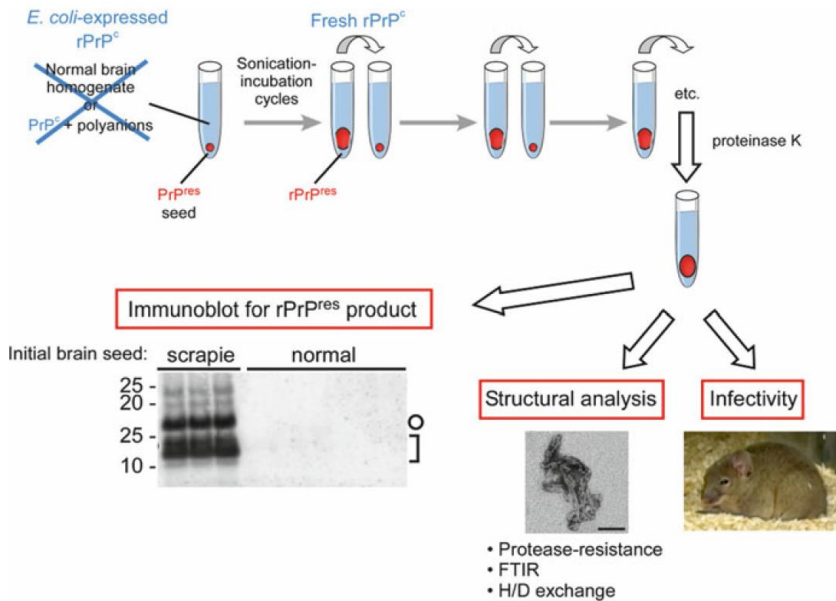


Рис. 7. Біохімічні, структурні та біологічні дослідження рекомбінантного продукту *PMCA* (*r-PMCA*) за допомогою імуноблоту та електронної мікроскопії (Atarashi R. et al., 2007).

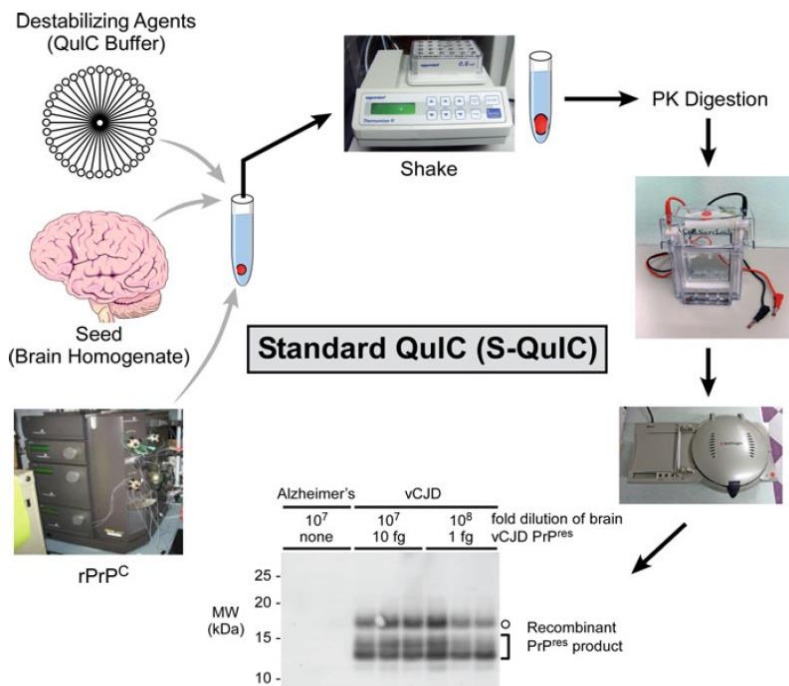


Рис. 8. Стандартний метод індукованої вібрацією конверсії (перетворення) – *S-QuIC*. Представлені компоненти *S-QuIC* (субстрат *rPrP<sup>C</sup>*, суспензія мозку та конверсійний буфер). Показані кінцеві продукти перетворення реакції, з використанням гомогенатів мозку загиблих від *vCJD*, використані негативні контролю *PrP<sup>res</sup>* або хвороби Альцгеймера (*AD*). Як субстрат використаний *rPrP<sup>C</sup>* хом'яка ( залишки 23–231), продукти, перетравлені протеїназою *K* (*PK*), аналіз проводився з використанням антисироватки *R20* (*C*-кінцевий епітоп). Розкриті кружечки позначають фрагменти 17-кДа, а дужки – смуги з нижчою молекулярною масою (10–13 кДа). Використана методика імуноблота за Orru C.D. et al. (2009, 2011).

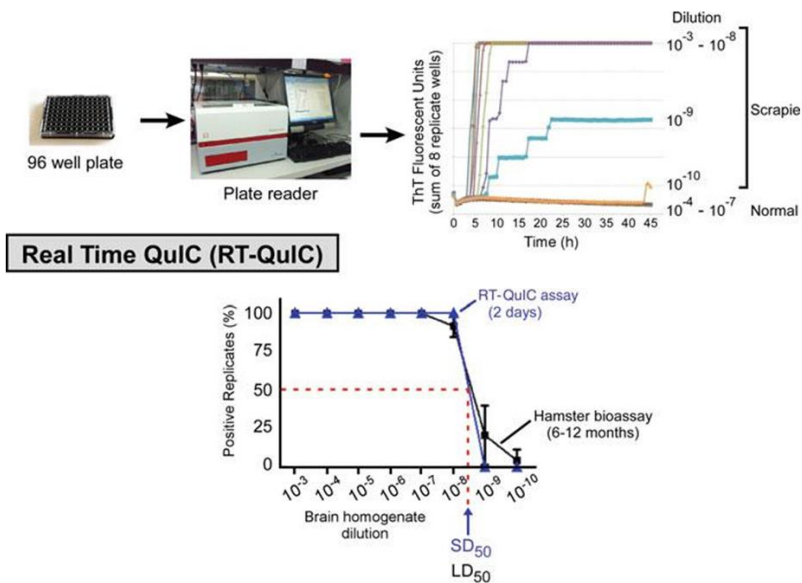


Рис. 9. Схема *QuIC RT-QuIC* у реальному часі та порівняння титрування кінцевої точки розведення суспензії мозку від тварини хворої на скрепі за допомогою *RT-QuIC* після біопробы на тваринах.

(Верхня панель) Аналіз *RT-QuIC* розведень нормального гомогенату мозку та гомогенату головного мозку (*BH*) із використанням *rPrP<sup>C</sup>* хом'яка (90–231) як субстрату.

(Нижня панель) Порівняння титрування кінцевої точки розведення гомогенату мозку хом'яка за допомогою *RT-QuIC* та біопробы (біоаналізу) на тваринах. Вказано оцінку Спірмена-Карбера для  $SD_{50}$  (тобто доза зараження, що дає достатню флуоресценцію тіофлавіну Т у половині повторюваних лунок) на 2 мл чистої тканини мозку.

Графіки адаптовано за Orru C.D. et al. (2009)  
та Orru C.D. and Caughey B. (2011).

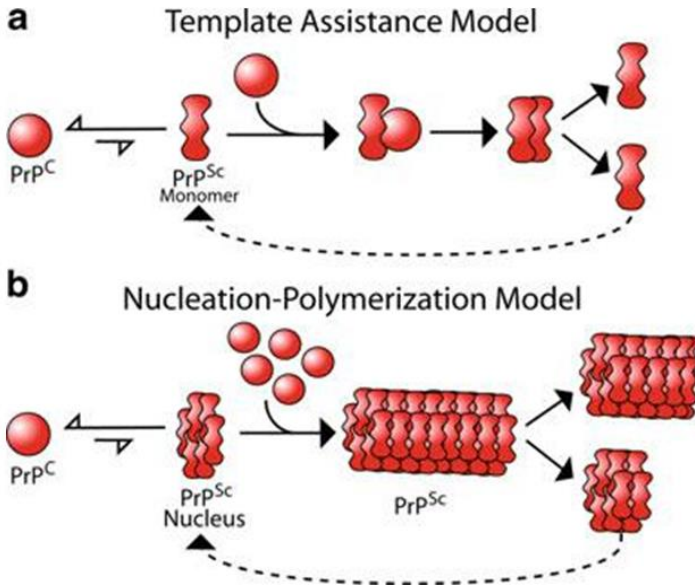


Рис. 10. Моделі реплікації пріонів.

(a) Шаблонна допоміжна модель передбачає, що мономер  $PrP^{Sc}$  є більш стабільним, ніж  $PrP^C$ , але кінетично недоступний. У рідкісних випадках, коли мономер  $PrP^{Sc}$  створюється спонтанно (або потрапляє екзогенним шляхом), він може шаблонувати неправильне згортання іншої молекули  $PrP^C$  шляхом прямої взаємодії. Пунктирна лінія показує, що новостворений мономер  $PrP^{Sc}$  може діяти як ще одна затравка для утворення  $PrP^{Sc}$ .

(b) Модель полімеризації білка передбачає, що бар'єром для перетворення пріонного білка є утворення ядра, в якому білок приймає структуру, подібну до  $PrP^{Sc}$ . Формування такого агрегату низького порядку не є сприятливим; однак, як тільки він утворився, полімеризація з пулу молекул  $PrP^C$  може відбуватися ефективно. Фрагментація полімеру збільшує кількість кінців для залучення мономерів  $PrP^C$

(за Surewicz W.K., Apostol M.I., 2011).

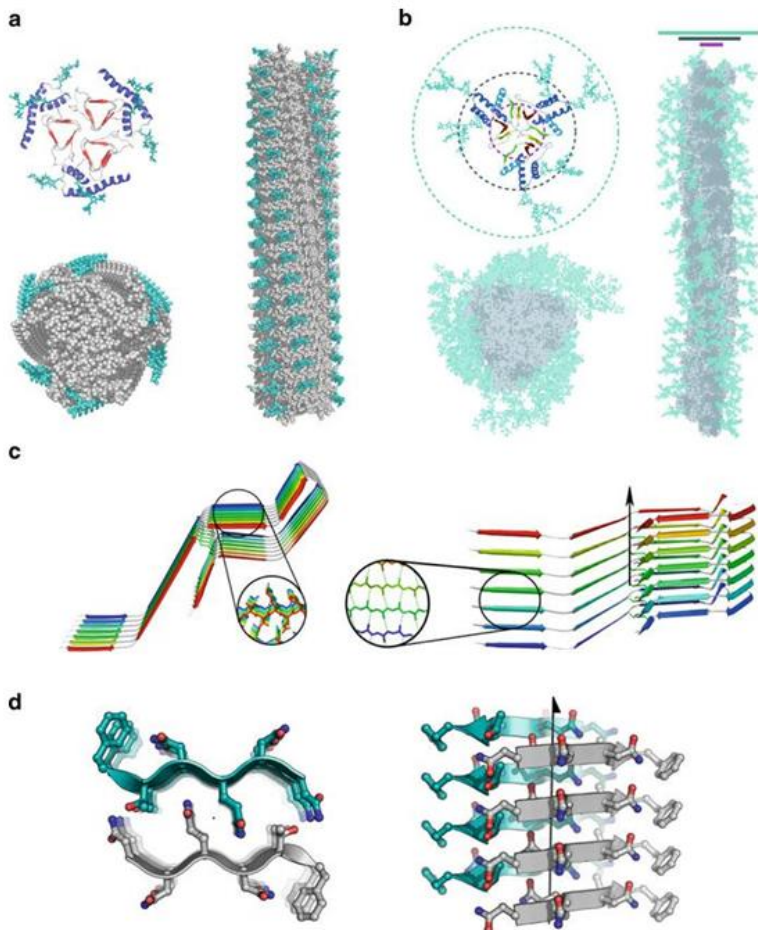


Рис. 11. Структурні моделі  $PrP^{Sc}$  та амілоїду пріонного білка.

(a)  $b$ -спірально модель  $PrP^{Sc}$ . Ліва верхня панель: область, що містить залишки 89–175, закручена в  $b$ -спірально складку з окремими  $b$ -ланцюгами, позначеними червоним кольором, і ці  $b$ -спіралі самоасоціюються в тримірну збірку.  $a$ -спіраль 3 і більша частина  $a$ -спіралі 2 залишаються в нативній конформації (синій). Олігосахариди обарвлюють зовнішню сторону тримера (блакитний). Нижня ліва панель: модель тримера, що заповнює простір, де білок показано сірим кольором, а олігосахариди – блакитним. Права панель: тримери зібрані в збірку, що нагадує протофібрилу або фібрилу. Адаптовано з використанням координат за Govaers C. et al. (2004), (b)  $b$ -спірально модель протофібрил  $PrP^{Sc}$ , проілюстрована з використанням тієї ж схеми панелі та колірного коду, як у (a). Відтворено за DeMarco M.L., Daggett V. (2004), (c) паралельна модель  $b$ -структури в ресстрі для ядра рекомбінантних амілоїдних фібрил  $PrP^{90-231}$ , утворених *in vitro*.



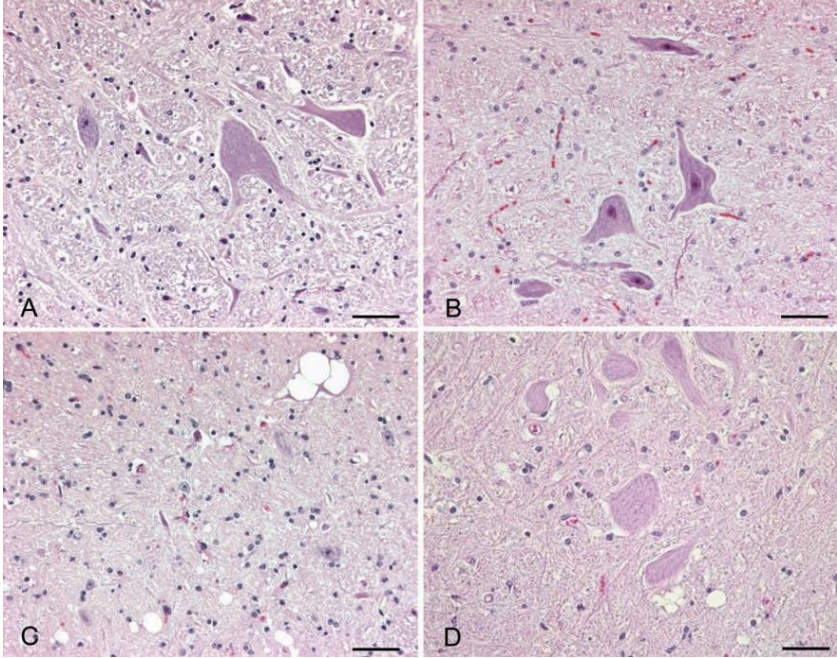


Рис. 12. Мозок; великої рогатої худоби. Ділянки стовбура мозку на рівні “засувки” (*obex*) у великої рогатої худоби, уражені: (A) хронічною виснажливою хворобою (*CWD*); (B) скрепі; (C) трансмісивною енцефалопатією норок (*TME*); (D) губчастою енцефалопатією великої рогатої худоби (*BSE*). Звертає увагу на себе відсутність губчастих змін у тканині великої рогатої худоби, ураженій *CWD* або скрепі (A, B). Ураження, що супроводжуються губчастою енцефалопатією (вакуолізація) реєструються у великої рогатої худоби, зараженої *TME* або природно ураженої *BSE* (C, D). Мікрофотографії тканин великої рогатої худоби отримані з публікації Richt J.A. et al. (2007).

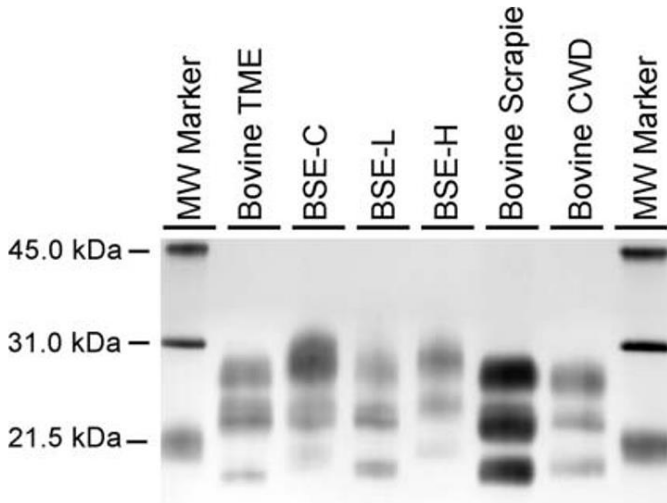


Рис. 13. Вестерн-блот-аналіз різних трансмісивних губчастих енцефалопатій (ТГЕ) у великої рогатої худоби з використанням моноклонального антитіла 6H4. Завантажувальна кількість гомогенату мозку не є постійною, щоб забезпечити достатню інтенсивність сигналу для кожного TSE. Трансмісивна енцефалопатія норок (TME), скрепі, і хронічна виснажлива хвороба (CWD; чорнохвості олені) – усі матеріали отримані після експериментального внутрішньочерепного зараження великої рогатої худоби. Матеріали за губчастої енцефалопатії великої рогатої худоби (BSE)-C, BSE-L і BSE-H є природними випадками BSE. Смуга з найвищою молекулярною масою зазвичай називається *di*-глікозилюваною смугою. Середня смуга моноглікозилювана, а нижня смуга неглікозилювана. BSE-H та BSE-C можна відрізнити один від одного та від усіх інших TSE у великої рогатої худоби за комбінацією молекулярної маси неглікозилюваної смуги (смуга < 21,5 кДа) та інтенсивності диглікозилюваної смуги (приблизно 31,0 кДа) щодо інших 2 смуг. TME і BSE-L великої рогатої худоби не відрізняються один від одного під час дослідження в вестерн-блоттингу, але відрізняються від BSE-C, BSE-H, скрепі великої рогатої худоби та CWD. Подібним чином, скрепі великої рогатої худоби та CWD не можна відрізнити за допомогою вестерн-блоттингу, але вони чітко відрізняються від TME, BSE-L, BSE-C та BSE-H. CWD від чорнохвостих оленів і CWD від білохвостих оленів неможливо розрізнити за допомогою вестерн-блоттингу (дані не показані) (Hamir A.N. et al., 2011).





Рис. 14. Вівця уражена скрепі (за Mark Dagleish, Moredun Research Institute, Единбург, Шотландія).

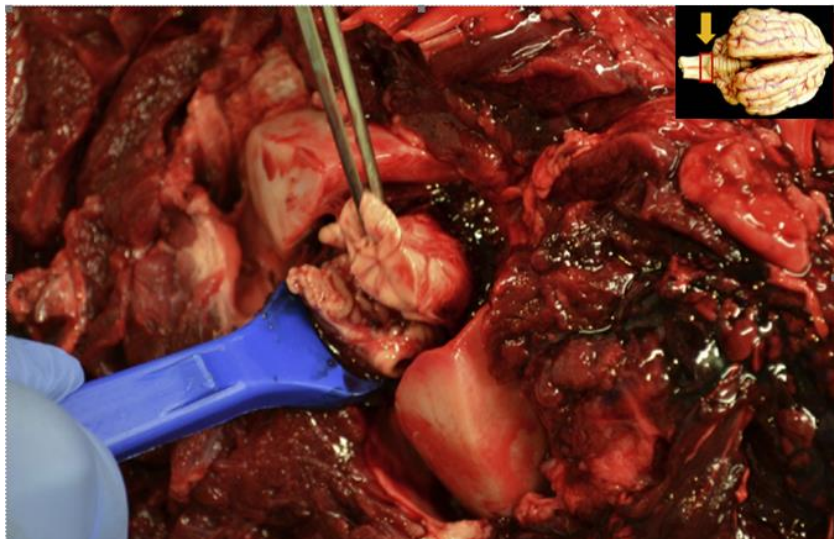


Рис. 15. Взяття проби стовбура мозку (*obex*) через великий отвір (Corona C. et al., 2017).



Рис. 16–18. Відбір частини стовбуру мозку (*obex* або “засувка”)  
(Corona C. et al., 2017).



Рис. 16–18. Відбір частини стовбуру мозку (*obex* або “засувка”)  
(Corona C. et al., 2017).



Рис. 19. Клінічні ознаки Куру у дитини (Gajdusek D.C., 1971).



Рис. 20. Клінічні ознаки губчастої енцефалопатії ВРХ (*BSE*)  
(Braun U. et al., 1998; Harman J.L., Silva C.J., 2009; Baron T., Calavas D., 2005;  
Bradley R., 2002; Detwiler L.A., Rubenstein R., 2000; Prince M.J. et al., 2003).

## ЗМІСТ

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП .....	5
ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРИННОЇ КОНЦЕПЦІЇ, ПРИОНІВ І ТРАНСМІСИВНИХ СПОНГІФОРМНИХ ЕНЦЕФАЛОПАТІЙ .....	8
СЛАБКИЙ ЗВ'ЯЗОК МІЖ PrP <sup>Sc</sup> І НЕЙРОТОКСИЧНІСТЮ.....	43
ПРИОНИ У БАКТЕРІЙ.....	45
ПРИОНИ У ДРІЖДЖІВ .....	49
ШТАМИ ПРИОНІВ.....	57
РОЗПОВСЮДЖЕНІСТЬ ПРИОНІВ У ПРИРОДІ .....	82
ГЕНЕТИЧНІ МУТАЦІЇ У ПРИОНІВ.....	86
ЛІКУВАННЯ ПРИОННИХ ХВОРОБ .....	90
ВАРІАБЕЛЬНА ПРОТЕАЗО-ЧУТЛИВА ПРИОНОПАТІЯ.....	93
ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ВРХ .....	97
ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ВЕРБЛЮДІВ .....	150
ЕКЗОТИЧНА ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ КОПИТНИХ .....	153
КУРУ.....	154
ХВОРОБА ГЕРСТМАНА-ШТРАУСЛЕРА-ШЕЙНКЕРА.....	157
СКРЕПІ .....	160
ГУБЧАСТА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ КОТЯЧИХ.....	188
СПОНГІФОРМНИЙ МІОЗИТ З ПРИОН-АСОЦІЙОВАНИМИ ВКЛЮЧЕННЯМИ.....	196
ТРАНСМІСИВНА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ НОРОК .....	196

ФАТАЛЬНЕ РОДИННЕ БЕЗСОННЯ .....	205
ХВОРОБА КРЕЙЦФЕЛЬДА-ЯКОБА .....	214
ХРОНІЧНА ВИСНАЖЛИВА ХВОРОБА.....	235
ХРОНІЧНА ПОСТУПАЛЬНА ЕНЦЕФАЛОПАТІЯ ДИТЯЧОГО ВІКУ (ХВОРОБА АЛЬПЕРСА) .....	248
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	250
ДОДАТКИ .....	363



*Наукове видання*

# **ПРІОННІ ХВОРОБИ ТВАРИН І ЛЮДИНИ**

**Корнієнко** Леонід Євгенович  
**Чечет** Ольга Миколаївна  
**Ложкіна** Олена Валеріївна  
**Карпуленко** Максим Сергійович  
**Уховський** Віталій Вікторович  
**Мороз** Олександр Анатолійович  
**Пискун** Антон Володимирович  
**Гайдей** Ольга Сергіївна  
**Царенко** Тарас Михайлович  
**Маковська** Ірина Федорівна  
**Кухтин** Микола Дмитрович

Комп'ютерна верстка: Мельник В.С.

Підписано до друку 15.06.2022. Формат 60×90/16  
Папір офсетний. Друк офсетний.  
Ум. друк. арк. 22,3. Ум. вид. арк. 23,8. Наклад 1000 прим.

Видано ТОВ «Юрка Любченка»  
e-mail: u19-07@ukr.net  
тел. 098-444-06-68  
м. Київ, просп. Перемоги, 50.  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4685 від 06.03.2014